Aus der Abteilung für Kiefer- und Gesichtschirurgie
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Dr. N. Schwenzer
des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Universität Tübingen

Elektronenmikroskopische Untersuchung des Nervus alveolaris mandibularis der Ratte nach medikamentöser Schädigung mit Ledermix-Paste, Dontisolon-Paste, AH 26, Asphaline A, Endomethasone, Calxyl, Cresytin W und Amalgam

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
HANS-DIETER MÜLLER
aus Kirchheim unter Teck

1984

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Aus der Abteilung für Kiefer- und Gesichtschirurgie
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Dr. N. Schwenzer
des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Universität Tübingen

Elektronenmikroskopische Untersuchung des Nervus alveolaris mandibularis der Ratte nach medikamentöser Schädigung mit Ledermix-Paste, Dontisolon-Paste, AH 26, Asphaline A, Endomethasone, Calxyl, Cresytin W und Amalgam

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
HANS-DIETER MÜLLER
aus Kirchheim unter Teck

1984

Dekan:	Professor Dr. H. D. Waller
1. Berichterstatter:	Professor Dr. Dr. R. Schmelzle
2. Berichterstatter:	Professor Dr. U. Schmidt

Druck: Zeeb-Druck, Tübingen 7 (Hagelloch)

M E I N E N E L T E R N

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung und Problemstellung	1
2.	Material und Methode	2
2.1.	Gewinnung des Materials	2
2.1.1.	Verwendete Wurzelkanalfüllmaterialien	2
2.1.2.	Versuchstier	2
2.1.3.	Anzahl der Versuche und Versuchsdauer	3
2.1.4.	Operation	3
2.1.5.	Abtöten der Tiere und Gewinnung der Nervenpräparate	4
2.1.5.1.	Intravitale Fixierung	4
2.1.5.2.	Präparation des Unterkiefers	4
2.1.5.3.	Freilegen des Nerven im Kieferknochen	4
2.1.6.	Histologische Aufarbeitung	4
2.1.6.1.	Einbettung in Araldit R	4
2.1.6.2.	Trimmen des Araldítblockes	5
2.1.6.3.	Herstellung von Semidünnschnitten und Färbung	5
2.1.7.	Lichtmikroskopische Auswertung	5
2.2.	Elektronenmikroskopie	5
2.2.1.	Vorbereitung zur elektronenmikroskopischen Untersuchung	5
2.2.2.	Trimmen des Araldítblockes	6
2.2.3.	Zieltrimmen des Araldítblockes	6
2.2.4.	Herstellung der Ultradünnschnitte	7
2.2.4.1.	Wahl der Schnittdicke	7
2.2.5.	Auffangen der Schnitte	9
2.2.5.1.	Trägernetze für Schnitte	9
2.2.6.	Nachkontrastierung der Ultradünnschnitte	11
2.2.6.1.	Kontrastierung mit Uranylacetat	11
2.2.6.2.	Kontrastierung mit Bleizitrat	11
2.2.7.	Elektronenmikroskopische Untersuchung	12
3.	Ergebnisse	13
3.1.	Elektronenmikroskopische Auswertung	13

3.1.1.	Allgemeine Vorbemerkungen	13
3.1.1.1.	Einteilung der aufgetretenen Schädigungen	14
3.1.1.2.	Leerversuche	14
3.1.2.	Bild eines ungeschädigten Nervenfaser-querschnittes (Leerversuch)	14
3.1.3.	Ledermix-Paste	16
3.1.4.	Dontisolon-Paste	20
3.1.5.	AH 26	25
3.1.6.	Asphaline A	43
3.1.7.	Endomethasone	52
3.1.8.	Calxyl	59
3.1.9.	Cresytin W	67
3.1.10.	Amalgam	74
3.2.	Schaubild Nr. 1	82
3.3.	Schaubild Nr. 2	83
3.4.	Schaubild Nr. 3	84
4.	Diskussion	85
4.1.	Diskussion der Methode	85
4.1.1.	Vorbemerkungen	85
4.1.2.	Das Versuchstier	86
4.1.3.	Operationstechnik	86
4.1.4.	Versuchsdauer	87
4.1.5.	Präparatentnahme	87
4.2.	Diskussion der Ergebnisse	88
4.2.1.	Vorbemerkungen	88
4.2.2.	Charakteristika der Wirkstoffe	89
4.2.3.	Diskussion der Einzelergebnisse	91
4.2.3.1.	Ledermix-Paste	91
4.2.3.2.	Dontisolon-Paste	91
4.2.3.3.	AH 26	92
4.2.3.4.	Asphaline A	94
4.2.3.5.	Endomethasone	95
4.2.3.6.	Calxyl	96
4.2.3.7.	Cresytin W	97
4.2.3.8.	Amalgam	97

5. Zusammenfassung 100

6. Literaturverzeichnis 101

Anhang I: Zusammensetzung der untersuchten Wurzelkanalfüllmaterialien nach Herstellerangaben

1. Einleitung und Problemstellung

Dinkelacker, Dobler und Moser führten 1983 (41, 45, 115) eine Studie über die Neurotoxizität von Wurzelkanalfüllmaterialien durch, indem sie in einer tierexperimentellen Untersuchung die Verträglichkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien am Nervus alveolaris mandibularis der Ratte überprüften.

Die Untersuchung diente dem Ziel Kausalzusammenhänge zwischen der Neurotoxizität des chemischen Stoffes in Form von Sensibilitätsstörungen und den histologisch erfaßbaren Schäden nachzuweisen. (6, 8, 14, 18, 19, 37, 40, 46, 49, 50, 52, 53, 59, 64, 65, 68, 74, 78, 79, 80, 82, 83, 84, 93, 98, 100, 101, 107, 110, 111, 112, 116, 119, 120, 125, 131, 141, 144, 145, 146, 147, 151, 152, 154, 155)

Da durch deren lichtmikroskopische Untersuchung jedoch nur ein quantitatives Maß der Schädigung angegeben werden konnte, interessierte uns, durch ultrastrukturelle Untersuchungen eine qualitative Beurteilung des Schädigungstypes, um so zu einer Aussage zu gelangen über die in der Klinik gebräuchlichen Wurzelkanalfüllmaterialien.

Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist weiterhin, eine Einschätzung des Nerven im Hinblick auf mögliche Regeneratbildung geben zu können (3, 4, 15, 21, 33, 43, 51, 56, 63, 87, 89, 102, 104, 105, 123, 128, 148, 158, 159, 169, 173).

2. Material und Methode

2.1. Gewinnung des Materials

Die untersuchten Präparate sind die in Kunstharz eingebetteten Nervenpräparate, die von Dobler und Moser 1983 hergestellt worden waren.
Da die Ergebnisse der Untersuchung entscheidend von deren Vorgehensweise beeinflußt sind, sollen Werdegang und Methodik bis zum eingebetteten Gewebe kurz dargestellt werden.

2.1.1. Verwendete Wurzelkanalfüllmaterialien

Im Rahmen einer Untersuchung von 15 Wurzelkanalfüllmaterialien, die im Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde in Tübingen Verwendung finden, werden in dieser Arbeit folgende acht Präparate in ihrer Wirkung auf den Nervus alveolaris mandibularis der Ratte elektronenmikroskopisch untersucht:

a) Ledermix-Paste
b) Dontisolon-Paste
c) AH 26
d) Asphaline A
e) Endomethasone
f) Calxyl
g) Cresytin W
h) Amalgam [1)]

2.1.2. Versuchstier

Es wurden hierbei aus Gründen der sehr geringen Infektanfälligkeit weibliche Ratten der Rasse Sprague -

---

1) Zusammensetzung und Hersteller der untersuchten Materialien im Anhang

Dawley, Gewichtsklasse 180 - 200 g verwandt.

2.1.3. Anzahl der Versuche und Versuchsdauer

Die oben genannten Wurzelkanalfüllmaterialien wurden jeweils sieben Tieren appliziert. Die Liegedauer betrug 3 Stunden, 3 Tage, 7 Tage, 14 Tage und 61 Tage. Für die Liegezeit von 14 Tagen und 61 Tagen wurden jeweils zwei Tiere operiert.

2.1.4. Operation

Nachdem die Versuchstiere mit einem Gemisch aus Nembutal (Pentobarbital) und isotoner Kochsalzlösung narkotisiert waren, wurde, unter Einhaltung aseptischer Kautelen, von einem vertikalen Hautschnitt ausgehend, der genau zwischen Angulus mandibulae und den Nagezähnen lag, der Musculus masseter durchtrennt und der Knochen freigelegt.
Der Nervus alveolaris mandibularis war oberhalb der Keimanlage des Nagezahns als deutlich sichtbares, weißliches, im Knochen verlaufendes Band zu erkennen. Unter mikroskopischer Kontrolle wurde der Knochen über dem Nerv, ca. 2 mm distal der oben beschriebenen Stelle, auf einer Länge von 1 - 2 mm mit einem speziell zugeschärften Scaler (Zahnsteinentfernungsinstrument) vorsichtig ausgedünnt, bis nur noch eine seidenpapierdünne Knochenschicht stehenblieb. Diese wurde am Rand des Mandibularkanals in Kanalrichtung eingeritzt und mit einem zahnärztlichen Spatel abgehoben, ohne daß der direkt darunter verlaufende Nerv tangiert oder gar mechanisch geschädigt wurde.
Man hatte auf diese Weise ein ca. 1 x 2 mm großes Fenster im Mandibularkanal erhalten, unter dem der Nerv freilag.
Auf den freiliegenden Nervabschnitt wurde eine stecknadelkopfgroße Menge des jeweiligen Materials mit dem zahnärztlichen Spatel appliziert, so daß das Fenster völlig verschlossen war und das Material Kontakt mit dem Nerven hatte.
Nach Antrocknen des Materials wurden die Muskelränder sorgfältig über dem Knochen mit 2 - 3 Muskelnähten adaptiert, die Haut mit ca. 5 Einzelnähten verschlossen.
In allen Fällen war die Hautwunde nach 7 Tagen verheilt. Eine Wundinfektion wurde nie beobachtet. Stets erfolgte Primärheilung.

2.1.5. Abtöten der Tiere und Gewinnung der Nervenpräparate

2.1.5.1. Intravitale Fixierung

Nach der jeweiligen Liegedauer wurden die Tiere in Narkose durch Infusion von 4 % igem gepuffertem Paraformaldehyd ad exitum gebracht.
Das Paraformaldehyd wurde hierzu über die zuvor operativ freigelegte Arteria carotis communis dexter infundiert, was zunächst zur intravitalen Fixierung des Nervens führte.
Anschließend wurden die Tiere dekapitiert.

2.1.5.2. Präparation des Unterkiefers

Nach Entfernung der Haut über dem M. masseter wurde zunächst der Austrittspunkt des Nervus alveolaris inferior am Foramen mentale aufgesucht und scharf durchtrennt. Auch am Foramen mandibulare erfolgt nach Präparation die Durchtrennung scharf. Die rechte Unterkieferhälfte wurde von Muskulatur und Weichteilen befreit, nach Durchtrennung der vorderen Syndesmose und Gelenkbänder entnommen und zur weiteren Fixierung in mit 4 % igem Paraformaldehyd gefüllten Zylindergläsern gelagert.

2.1.5.3. Freilegen des Nerven im Kieferknochen

Die Operationsstelle am Knochen wurde erneut aufgesucht und dort der Kanal auf einer Länge von 0,5 - 1 cm eröffnet.
Der gut sichtbare Nerv wurde am proximalen und distalen Ende des eröffneten Kanals scharf mit der Mikroschere durchtrennt.
Auf diese Weise hatte man drei ca. 5 mm lange Teile des Nervs erhalten. Das proximale Ende wurde aus dem Foramen mandibulare, das distale aus dem Foramen mentale gezogen. Der mediale Teil (Applikationsstelle) wurde vorsichtig mit der Mikropinzette aus dem Kanal herausgehoben. Alle drei kamen in gesonderte Gläschen mit Cacodylatpuffer zur weiteren Bearbeitung.

2.1.6. Histologische Aufarbeitung

2.1.6.1. Einbettung in Araldit ^{R}

Die Nervenstücke wurden nach dem in der Abteilung für

submikroskopische Pathologie am Pathologischen Institut der Universität Tübingen gebräuchlichen Rezept in Araldit eingebettet. Die Nerven wurden in jeder Lösung 30 min belassen. Die Auspolimerisierung des Kunststoffes geschah bei 60° C im Brutschrank. Man erhielt auf diese Weise von jedem Nerv drei schneidbare Araldit blöcke, die auch auf Grund der angewendeten Einbettung eine Aufbereitung für eine elektronenmikroskopische Untersuchung zulassen.

2.1.6.2. Trimmen des Araldit blockes

Die Blöcke wurden mit dem Trimmgerät TM 60 der Firma REICHERT, AUSTRIA bis zur Mitte des darin eingebetteten Nervenstückes heruntergetrimmt.

2.1.6.3. Herstellung von Semidünnschnitten und Färbung

Nach dem Trimmen wurden die Blöcke mit dem Ultramikrotom MT 2 der Firma PORTER-BLUM semidünn geschnitten. Die Schnittdicke betrug 0,8 µm.
Die Schnitte wurden anschließend mit Toluidinblau durch Auftropfen gefärbt. Es wurden von jedem Block zwei Objektträger mit jeweils 15 - 20 Schnitten angefertigt.

2.1.7. Lichtmikroskopische Auswertung

Die lichtmikroskopische Auswertung der Präparate wurde von Dobler und Moser 1983 mit einem ZEISS-Mikroskop 470600 bei 25-, 100- und 400-facher Vergrößerung vorgenommen.

2.2. Elektronenmikroskopie

2.2.1. Vorbereitung zur elektronenmikroskopischen Untersuchung

Vorraussetzung für eine elektronenmikroskopische Untersuchung durch Transmission ist es Schnitte herzustellen, die dünn genug sind, um vom begrenzten Durchdringungsvermögen des Elektronenstrahls direkt durchstrahlt zu werden.

Bei der Verwendung von konventionellen Elektronenmikroskopen, die mit Beschleunigungsspannungen bis zu 100 kV arbeiten, sollte die Schnittdicke im Bereich von ca. 10 - 100 nm liegen. Diese Schnitte werden Ultradünnschnitte genannt.
Mit modernen Ultramikrotomen ist es relativ einfach 50 - 100 nm dicke Schnitte herzustellen, die der Untersuchung der meisten Feinstrukturen genügen. Vor der elektronenmikroskopischen Begutachtung müssen die Schnitte jedoch mit Komplexsalzlösungen vorbehandelt werden, um ihren Kontrast zu erhöhen.
Bevor man sich der Elektronenmikroskopie zuwendet, ist es ratsam, ein klares Verständnis der Querstrukturen auf der Ebene des Lichtmikroskops zu besitzen, d.h., die Strukturen, die im Elektronenmikroskop untersucht werden sollen, sollten im Lichtmikroskop ausgewählt werden.
So kamen zur weiteren Verarbeitung für die Elektronenmikroskopie die von Dobler und Moser 1983 angefertigten, in Araldit eingebetteten Nervenpräparate von drei und einundsechzig Tagen nach Exposition mit den verschiedenen Wurzelkanalfüllmaterialien in Betracht.

2.2.2. Trimmen des Araldit blockes

Die zu untersuchenden Präparateblöcke wurden mit dem Trimmgerät TM 60 der Firma REICHERT, AUSTRIA zurechtgetrimmt.

2.2.3. Zieltrimmen des Araldit blockes

Unter Betrachtung mit einem stereoskopischen Mikroskop und Kaltlicht-Beleuchtung wurde der eingebettete Nerv manuell so feingetrimmt, daß im Lupenquerschnittsbild das Nervenfaserbündel von Einbettungsmaterial weitgehend befreit erschien (Abb. 1). Ziel war zudem die

Schaffung einer trapezförmigen Blockoberfläche.
Die Führung der Trimmklinge erfolgte etwa in einem Winkel von 60° zu allen Seiten des Blockes, so daß das Bild einer grob zugespitzten Pyramide entstand (Abb. 2).

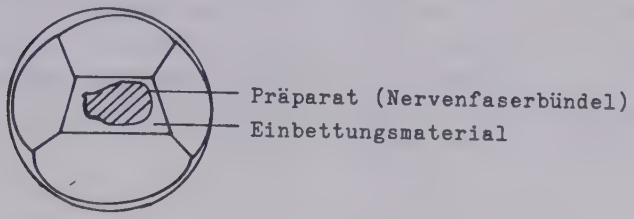

Abb. 1: Lupenquerschnittsbild des Nervenbündels in der Aufsicht

Abb. 2: Seitenansicht des eingebetteten Nervenfaserbündels

2.2.4. Herstellung der Ultradünnschnitte

Nach dem Zieltrimmenwurden mit eigens angefertigten Glasmessern (Abb. 3), gebrochen mit dem LKB KNIFE-MAKER 7800 B, wurden mit dem Ultramikrotom MT 2 der Firma PORTER-BLUM von den Blöcken Ultradünnschnitte hergestellt.
Die Schnittdicke betrug hierbei zwischen 60 - 90 nm.

2.2.4.1. Wahl der Schnittdicke

Die geringste Schnittdicke, die erreicht werden kann hängt ab von der Größe der Blockoberfläche, der Qualität

der Einbettung und der Schärfe der Glasmesser-Schneidekante. Wenn durch das stereoskopische Mikroskop des Ultramikrotoms auf der Wasseroberfläche schwimmende Schnitte beobachtet werden können, werden an den Schnitten Farben sichtbar, die durch Interferenzen hervorgerufen werden. Das Licht wird dabei sowohl von der oberen Fläche der Schnitte, als auch von der Grenzfläche Schnitt / Wasser reflektiert und die Lichtwellen erzeugen Interferenzfarben, die abhängig sind von der Dicke der Schnitte und dem Brechungsindex des geschnittenen Materials.

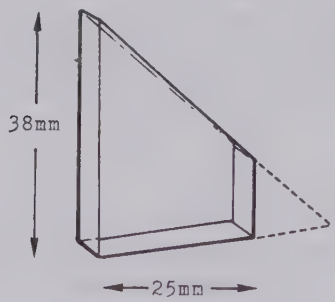

Abb. 3: Schemazeichnung eines Glasmesser`s

Die Farben bilden ein durchgehendes Spektrum ohne scharf getrennte Stufen, so daß der Maßstab (Abb. 4) nur als Anhaltspunkt für die tatsächliche Dicke genommen werden kann.
Unseren Ansprüchen genügten Schnitte innerhalb des Bereiches "silber" bis "blassgold" (60 - 90 nm).

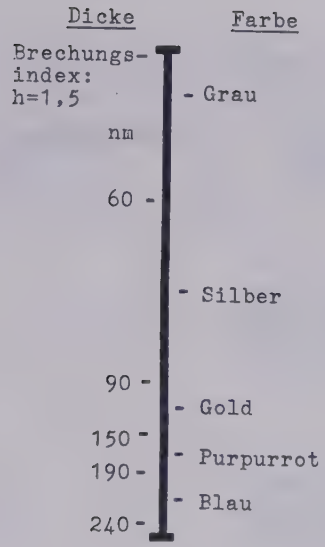

Abb. 4: Kontinuierlicher Farben- und Dickenmaßstab für Ultradünnschnitte

2.2.5. Auffangen der Schnitte

Die einzelnen Schnittserien wurden auf ein Trägernetz oder "Grid" aufgenommen, um sie im Elektronenmikroskop betrachten zu können. (Abb. 5).

2.2.5.1. Trägernetze für Schnitte

Es wurden Kupfernetze mit der Maschengröße 200 benutzt (Abb. 6).

Wegen der geringen Größe der Neuronquerschnitte war das aufbringen eines zusätzlichen Trägerfilmes auf das Kupfernetz erforderlich.

Diese, mit Nervenquerschnitten beladenen Kupfernetze wurden nunmehr staubfrei aufbewahrt.

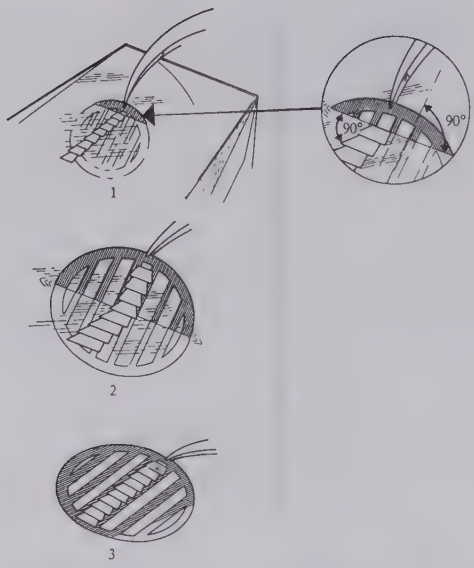

Abb. 5: Technik des Auffangens der Ultradünnschnitte

Abb. 6: Kupfernetz mit Maschengröße 200

2.2.6. Nachkontrastierung der Ultradünnschnitte

Nachdem alle Schnitte vorhanden waren, wurden sie noch zur Kontrasterhöhung mit Metallsalzlösungen nachbehandelt.

2.2.6.1. Kontrastierung mit Uranylacetat

a) Herstellung der Lösung

Hierzu wurden 3 g Uranylacetat ad 100 ml 70 % igem Äthylalkohol (nicht vergällt) gelöst, so daß eine gesättigte Lösung entstand.

b) Durchführung der Kontrastierung

Diese wurde 40 - 60 min lang unter Lichtschutz tropfenweise mit den Kupfernetzen in Berührung gebracht.
Der Lichtschutz ist notwendig um ein Ausfällen metallischen Urans zu vermeiden.
Danach wurden die Schnitte durch vorsichtiges Hin- und Herbewegen in Bechergläsern zuerst mit 50 % igem Alkohol und dann mit Aqua destillata je zweimal gespült.
Die Trocknung erfolgte durch Kontakt mit Fließpapier an der den Schnitten entgegenliegenden Fläche der Kupfernetze.

2.2.6.2. Kontrastierung mit Bleizitrat

a) Herstellung der Lösung

Hierzu wurden 0,02 g Bleizitrat in 10 ml Aqua dest. gegeben und 0,1 ml 10 n NaOH tropfenweise hinzugegeben. Anschließend wurde das Gefäß verschlossen, kräftig geschüttelt bis das Bleizitrat vollständig aufgelöst war und sodann wurde die Lösung mit Paraffinum subliquidum überschichtet. Die Schichtdicke betrug 2 - 3 mm.

b) Durchführung der Kontrastierung

Es wurde in die Mitte einer Petrischale, die am Rand mit 1 n NaOH-Lösung getränkten Filterpapierstreifen ausgelegt war, ein quadratisches Stück Dentalwachs gelegt. Auf dieses Dentalwachs wurde nacheinander gegeben:

1 Tropfen Bleizitratlösung, 5 Tropfen 0,02 n NaOH und 5 Tropfen Aqua destillata.
Nun wurde die Petrischale geschlossen und eine Minute zugewartet. Danach wurden die Netze über den Schnitten zur Kontrastierung 1 min auf den Bleitropfen gelegt. Dann wurden rasch nacheinander die Netze über den NaOH-Tropfen und über den Wassertropfen gezogen, mit einer Spritzflasche abgespült und zwischen Filterpapierstreifen gut getrocknet.
Die schnelle Durchführung dieses Arbeitsganges war wegen der Gefahr von Bleiphosphat-Niederschlägen durch das CO_2 der Außenluft besonders wichtig.

2.2.7. Elekronenmikroskopische Untersuchung

Die Präparate wurden mit dem Elektronenmikroskop ZEISS EM 10 bei 2500 bis 12500 facher Vergrößerung betrachtet, photographiert und nachfolgend beschrieben.

3. Ergebnisse

3.1. Elektronenmikroskopische Auswertung

3.1.1. Allgemeine Vorbemerkungen

Dobler und Moser haben in ihren histologischen Untersuchungen an den mit verschiedenen Wurzelkanalfüllmaterialien versehenen Nerven bei allen Präparaten zum Teil ausgedehnte Nervenfaserschädigungen gefunden und zwar mit einem Maximum am 7.ten bzw. am 14.ten Tag.
Uns interessierten insbesondere zwei Fragen:

A) Wie sieht das Schädigungsmaß in der Frühphase nach 3 Tagen, wie in der Spätphase nach 61 Tagen aus, zu Zeitpunkten also, bei denen lichtmikroskopisch zum großen Teil nur diskrete Schädigungen festgestellt werden konnten?

B) Läßt sich durch ultrastrukturelle Untersuchungen eine Aussage über den Schädigungstyp machen, um dadurch eine Information über die Toxizität der gebräuchlichen Wurzelkanalfüllmaterialien zu erhalten?

Bei dem Wurzelkanalfüllmaterial AH 26 wurde noch zusätzlich eine Untersuchung am 14.ten Tag vorgenommen, um zu prüfen, ob eine proportionale Abhängigkeit des Schädigungsausmaßes zur Liegedauer gegeben ist.
Bei einigen Wurzelkanalfüllmaterialien beschränkte man sich in der Untersuchung nicht nur auf die Aufbringungsstelle, sondern verwendete oder stellte Präparate her von Orten, die proximal oder distal der Applikationsstelle entnommen wurden. Auf diese Weise versuchten wir einen Einblick über die Ausbreitung der Schädigung zu bekommen.
Bei der elektronenmikroskopischen Auswertung der Schnitte wurde der Form und dem Verhalten folgender Strukturen des Nerven besondere Bedeutung zugemessen:

- Endoneurium (Auftreten von Myelophagen)
- Myelinscheide (Aufsplitterung, Vakuolisierung, Dicke)
- Axon und Axoplasma (Filamentanzahl, Organellengehalt, Vakuolen, Myelinabbauprodukte)

- Schwann`sche Zelle und Cytoplasma (Vakuolisierung, Vergrößerung, Oranellengehalt, Myelinabbauprodukte)

3.1.1.1. Einteilung der aufgetretenen Schädigungen

Bei der Auswertung der geschädigten Nervenquerschnitte ließen sich die festgestellten Schädigungen folgendermaßen einteilen und zusammenfassen, wobei die Schwere der Schädigung von oben nach unten zunimmt:

- Veränderungen im Cytoplasma der Schwann`schen Zelle
- primäre Demyelinisierung ohne Schädigung des Axons
- Axonschädigung mit sekundärer Demyelinisierung, die sog. Waller`sche Degeneration
- Myelinscheiden und Axonschädigung gleichzeitig

Als Besonderheit konnte bei einzelnen Präparaten der Befund einer selektiven Schädigung der markhaltigen Nervenfasern festgestellt werden, während die marklosen Fasern verschont blieben.

3.1.1.2. Leerversuche

Zu den ausgewählten Liegezeiten wurden jeweils auch noch die zugehörigen Leerversuche elektronenmikroskopisch untersucht (Riegger, in Vorbereitung), bei denen die Tiere zwar operiert, der Nerv freigelegt, jedoch kein Material aufgebracht wurde.

3.1.2. Bild eines ungeschädigten Nervenfaserquerschnittes (Leerversuch)

Diese Ausschnittsvergrößerung (Abb. 7) zeigt ein regelrechtes Faserquerschnittsbild, ohne jeden Anhalt auf pathologische Veränderungen. Man erkennt sowohl marklose wie auch markhaltige Nervenfasern, Teile von Schwann`schen Zellen, einen Fibroblasten und mehrere Mitochondrien im Axoplasma.

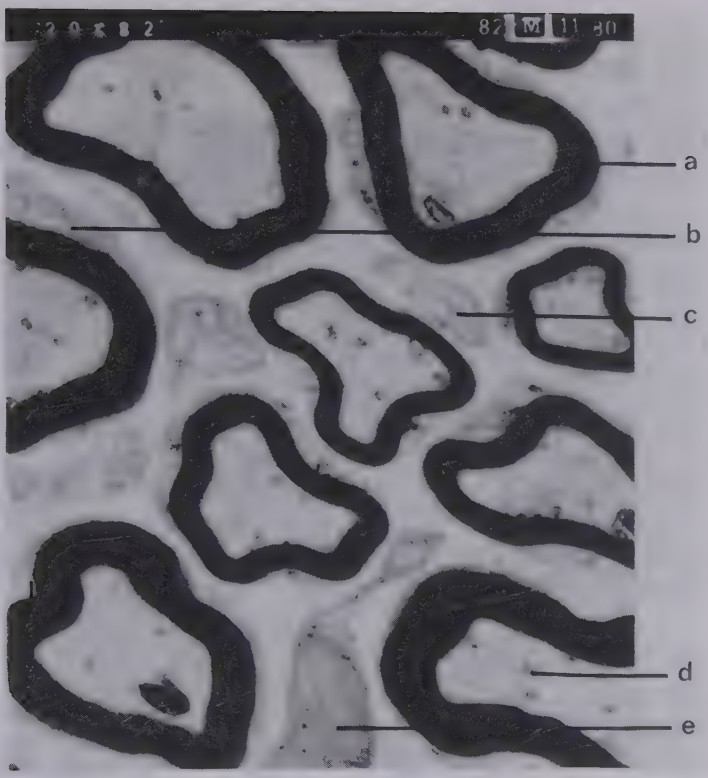

Abb. 7: N. mandibularis der Ratte ohne Applikation eines Schädigungsmittels
Vergrößerung: 1 : 12 800 [1)]

a = markhaltige Nervenfaser

b = Teil einer Schwann`schen Zelle

c = marklose Nervenfaser

d = Mitochondrium im Axoplasma

e = Fibroplast

---

1) Sämtliche Vergrößerungsangaben beziehen sich auf das Original. Im Druck jeweils um 30 % verkleinert.

3.1.3. Ledermix-Paste

3.1.3.1. Ledermix-Paste

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Die Übersichtsvergrößerung ergibt ein regelrechtes Faserspektrum des Nerven, ohne irgendwelche erkennbaren pathologischen Veränderungen.
Man sieht Axone sowohl mit dicken als auch mit dünnen Markscheiden, was einem ganz normalen peripheren Nervenfaserquerschnitt entspricht (Abb. 8).

Bei einer Vergrößerung von 1 : 12 800 ist an einigen markhaltigen Nervenfasern ein Organellenreichtum des Cytoplasmas der Schwann`schen Zelle zu erkennen. Insbesondere ist ein deutlich verbreitertes endoplasmatisches Retikulum mit Vermehrung freier Ribosomen und Polysomen zu beobachten. Auffällig ist insgesamt die reaktive Cytoplasmahypertrophie der Schwann`schen Zellen (Abb. 9).

3.1.3.2. Ledermix-Paste

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Die Abbildung 10 zeigt ein regelrechtes Faserspektrum mit markhaltigen und marklosen Nervenfasern. Vereinzeltes Auftreten von relativ dünnen Markscheiden.
Es finden sich bekannte Phänomene wie intramyelinäre Spaltbildungen und wolkige Strukturen, die Einbettungsartefakte darstellen.

Abb. 8: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Ledermix-Paste

Vergrößerung: 1 : 4000

a = dicke Markscheide

b = dünne Markscheide

c = Zellkern einer Schwann`schen Zelle

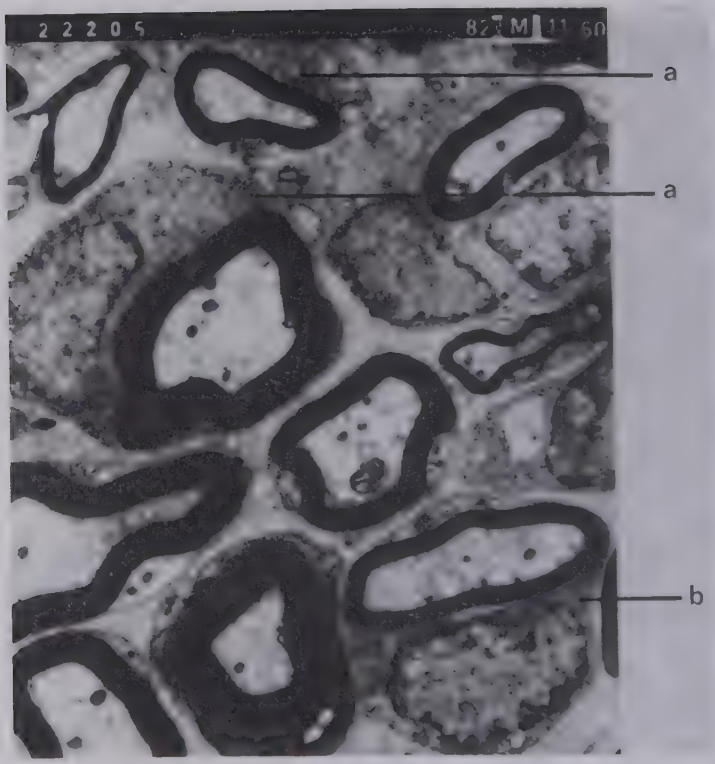

Abb. 9: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Aufbringung von Ledermix-Paste

Vergrößerung: 1 : 12 800

a = endoplasmatisches Retikulum in hypertrophischer Schwann`scher Zelle

b = vermehrte freie Ribosomen

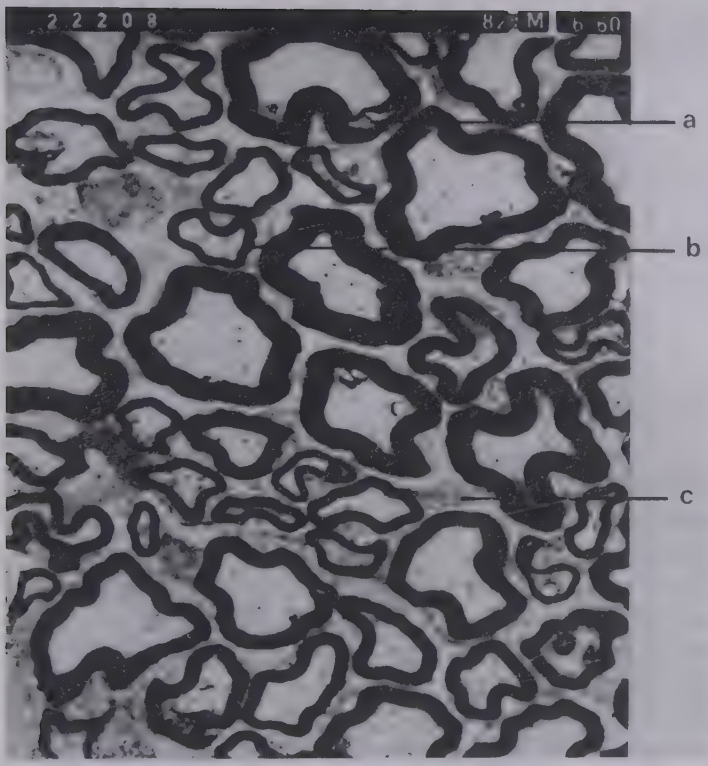

Abb. 10: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Ledermix-Paste

Vergrößerung: 1 : 4000

a = intramyelinäre Spaltbildung (Artefakt)

b = Beispiel einer relativ dünnen Markscheide

c = marklose Nervenfaser

3.1.3.3. Ledermix-Paste

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
Die Abbildung 11 zeigt einen Nervenquerschnitt in dem eine regelrechte Anordnung der Axone und Markscheiden imponiert. Im linken unteren Bildrand erkennt man ein markhaltiges Axon mit einer Schmitt-Lantermann`schen Einkerbung.

3.1.3.4. Klassifikation der festgestellten Schädigung:

Nach Applikation von Ledermix-Paste lassen sich am 3.ten postoperativen Tag reaktive Veränderungen im Cytoplasma in Form von verbreitertem endoplasmatischem Retikulum und und einer Cytoplasmahypertrophie der Schwann`schen Zelle feststellen.

3.1.4. Dontisolon-Paste

3.1.4.1. Dontisolon-Paste

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
In der Übersichtsvergrößerung (Abb. 12) zeigen sich bereits erste reaktive Veränderungen der Schwann`schen Zellen in Form einer Volumenzunahme des Cytoplasmas.
An den Myelinscheiden findet eine erste Aufsplitterung der Lamellen statt. Auffällig ist die große Anzahl von dünnen Markscheiden (Vielleicht Nähe Ranvier`scher Schnürring) an zum Teil relativ großen Axonen.

In der Vergrößerung (Abb. 13) erkennt man sowohl eine Mastzelle als auch zwei Nerven mit deutlicher Vakuolenbildung im Axoplasma. Desweiteren läßt sich hier eine Volumenzunahme des Cytoplasmas und auch eine Volumenzunahme des die Markscheide umgebenden Plasmasaumes beobachten.

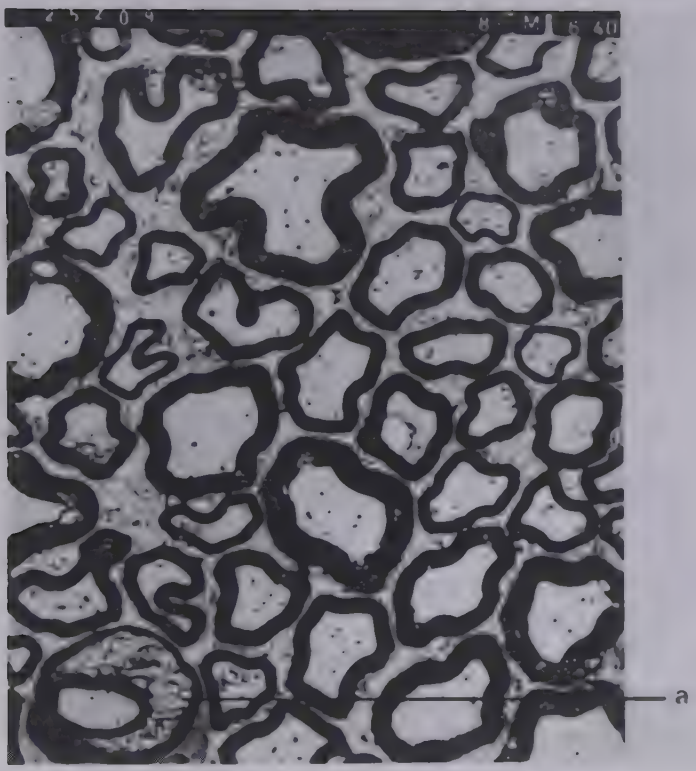

Abb. 11: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Aufbringung von Ledermix-Paste, distal der Applikationsstelle

Vergrößerung: 1 : 4000

a = Schmitt-Lantermann`sche Einkerbung

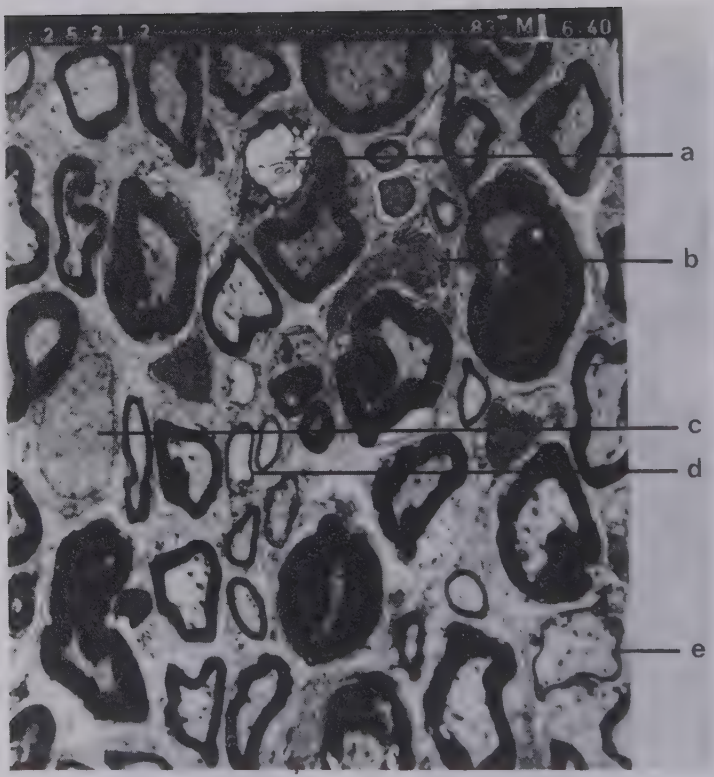

Abb. 12: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Aufbringung von Dontisolon-Paste

Vergrößerung: 1 : 4000

a = Aufsplitterung der Myelinscheide

b = Fibroblast mit hypertrophem ER

c = Voumenzunahme einer Schwann`schen Zelle

d = dünne Markscheide

e = weitgehend degenerierte Myelinscheide

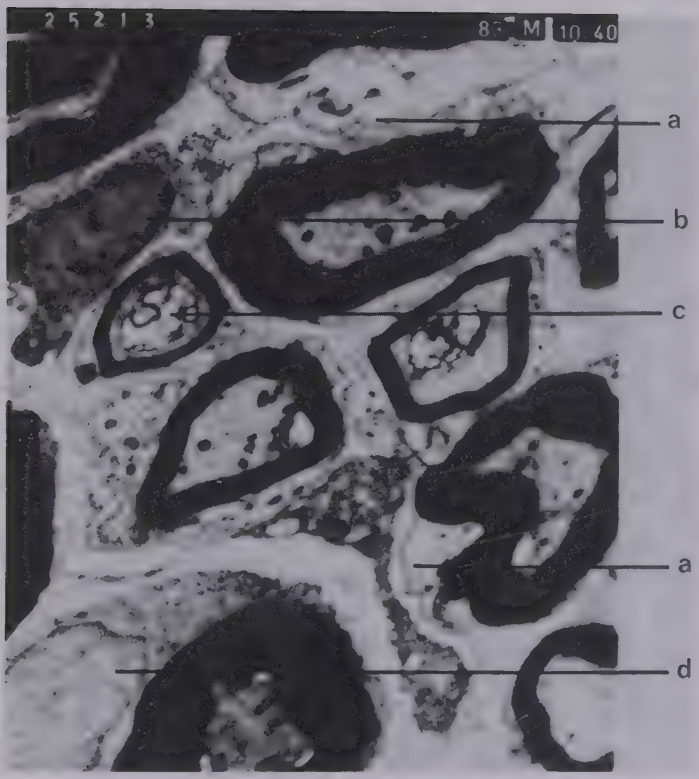

Abb. 13: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Aufbringung von Dontisolon-Paste

Vergrößerung: 1 : 10 080

a = Volumenzunahme des Plasmasaumes

b = Mastzelle

c = Vakuolenbildung im Axon

d = Volumenzunahme des Cytoplasmas

3.1.4.2. Dontisolon-Paste

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Die Abbildung 14 zeigt keine pathologischen Veränderungen. Die intramyelinären Spaltraumbildungen stellen einen Einbettungsartefakt dar.

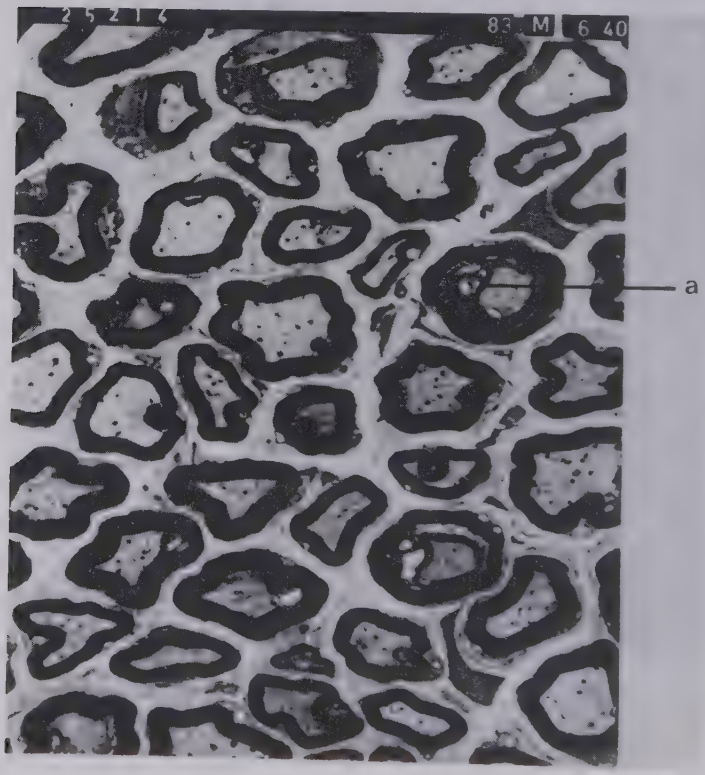

Abb. 14: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Dontisolon-Paste
Vergrößerung: 1 : 4000
a = intramyelinäre Spaltraumbildung (Artefakt)

3.1.4.3. Dontisolon-Paste

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
Bei dieser Abbildung (Abb.15) imponiert der Artfakt eines zu großen Faserzwischenraumes. Dieser, sowie die etwas bizarr geformten Myelinscheiden haben ihre Ursache in der mechanischen Entnahme des Nerven bei der Präparation. Pathologische Veränderungen sind nicht eindeutig zu erkennen.

3.1.4.4. Klassifikation der festgestellten Schädigung:

Nach Applikation von Dontisolon-Paste lassen sich am 3.ten postoperativen Tag sowohl reaktive Veränderungen im Cytoplasma in Form einer Volumenzunahme,als auch eine erste primäre Demyelinisierung ohne Axonschädigung erkennen.

3.1.5. AH 26

3.1.5.1. AH 26

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : proximal der Aufbringungsstelle
In Bild 16 sind Veränderungen zu erkennen, die sich hauptsächlich auf die Schwann`schen Zellen erstrecken. Die Aktivierung der Schwann`schen Zellen wirkt sich vor allem in der deutlich sichtbaren Ausbreitung des Neurolemms und in der enormen Zunahme und Ausweitung der Zisternen des endoplasmatischen Retikulums aus.
An den Markscheiden finden erste Abbauvorgänge statt, was sich an den Myelinballen in der Schwann`schen Scheide ("Elzholz-Körper") feststellen läßt. Auch der Gehalt des Axoplasmas an Mitochondrien scheint reaktiv vermehrt zu sein.

Die oben festgestellte Schädigung läßt sich durch die Detailvergrößerung der Abbildung 17 augenscheinlich belegen. Man erkennt Vakuolenbildung in der Markscheide, Myelinabbauprodukte und vermehrte Zysternen des endo-

plasmatischen Retikulums. Ein Beispiel für eine eindrucksvolle Aktivierung der Schwann`schen Zelle.

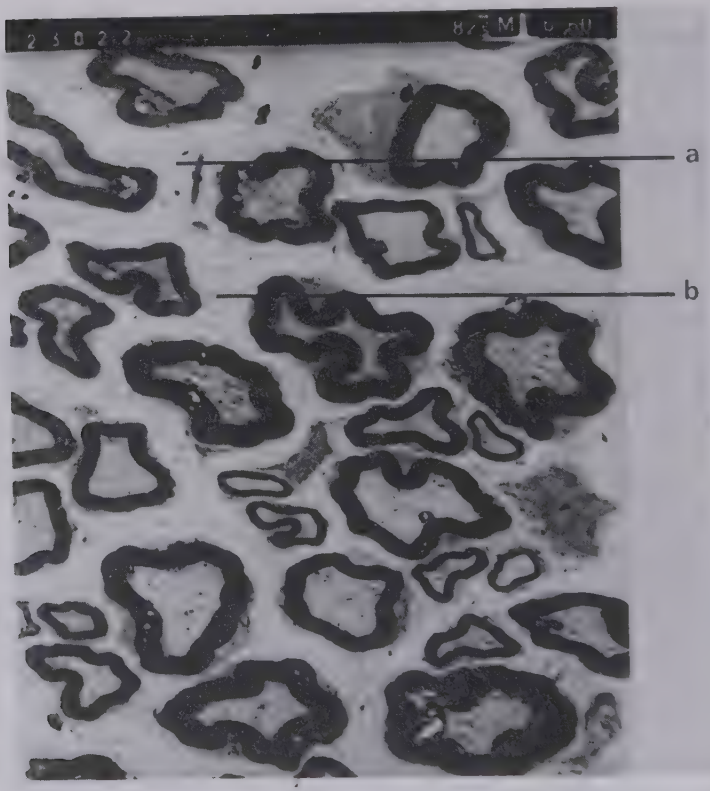

Abb. 15: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Aufbringung von Dontisolon-Paste, distal der Applikationsstelle

Vergrößerung: 1 : 4000

a = zu großer Faserzwischenraum

b = Schneidartefakt

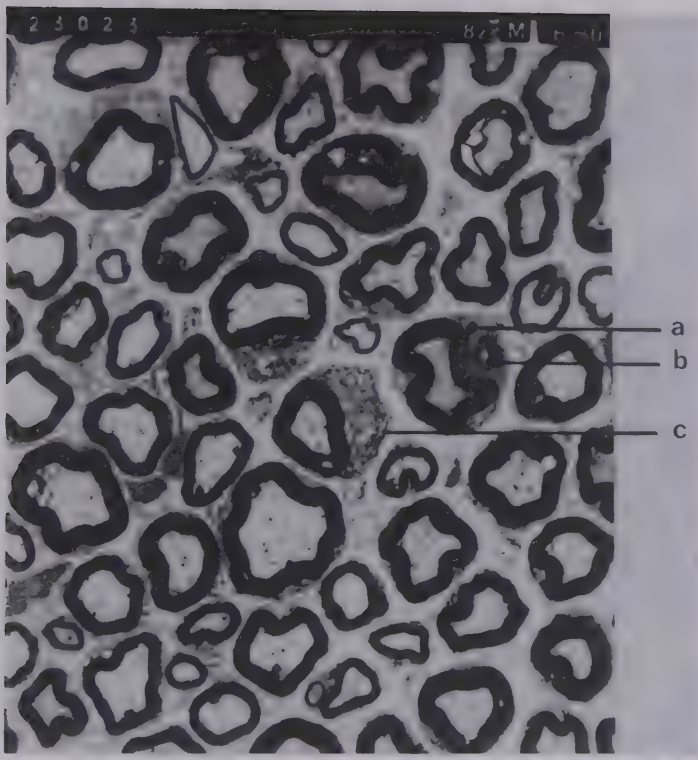

Abb. 16: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Aufbringung von AH 26, proximal der Applikationsstelle

Vergrößerung: 1 : 40000

a = Lysosom

b = Elzholz-Körper

c = Zisternenausweitung der endoplasmatischen Retikulums

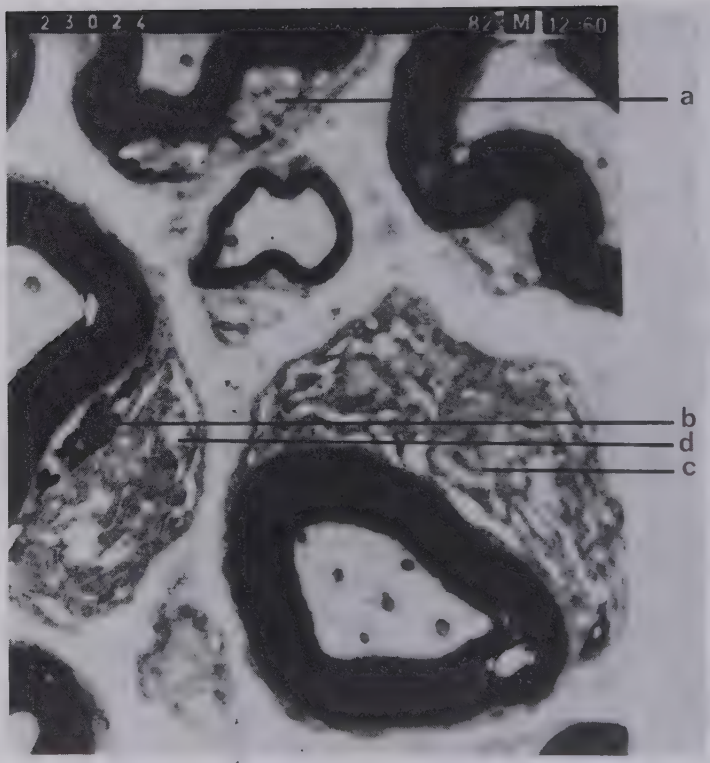

Abb. 17: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Aufbringung von AH 26, proximal der Applikationsstelle

Vergrößerung: 1 : 16 000

a = Vakuolenbildung in der Markscheide

b = Myelinballen

c = Aktivierung der Schwann`schen Zelle mit vermehrtem endoplasmatischem Retikulum

d = Vakuole

3.1.5.2. AH 26

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Dieses Nervenpräparat bietet die Gelegenheit total geschädigte Regionen (Abb. 18), Regionen die ein Übergangsgebiet von geschädigten und ungeschädigten Nervenfasern (Abb. 19), sowie ein vollkommen ungeschädigtes Nervengebiet (Abb. 20) zu betrachten.

Bei Bild 19 überwiegt ein verbreiteter Myelinzerfall, ebenfalls ist eine beginnende Axondegeneration zu erkennen. Die beginnende Einrollung der Myelinscheide ist evident für eine sich im Anfangsstadium befindliche Myelinschädigung. Man spricht von einem primären Markzerfall.
Im unteren Drittel des Bildes findet sich ein Fall einer beginnenden primären Axondegeneration.

Die Qualität der Degeneration läßt sich an der Photographie, die einen Ausschnitt der lokalen Schädigung darstellt, genauer untersuchen (Abb. 18). Es finden sich alle Stadien von Nervenfaseruntergängen. Man erkennt Schwann'sche Zellen, die ihre Markscheiden phagozytieren sowie total untergegangene Nervenfasern.
An den total untergegangenen Nervenfasern, die das Endstadium der Faserdegeneration darstellen wird sichtbar, daß hier bei dieser Art der Degeneration sowohl Markscheide als auch Axon untergeht. Es handelt sich also um eine Degeneration der gesamten Nervenfaser.

Die Abbildung 20 zeigt lediglich leichte reaktive Veränderungen an der Schwann`schen Zelle, wie Cytoplasmahypertrophie, Ribosomenvermehrung und Vakuolenbildung.

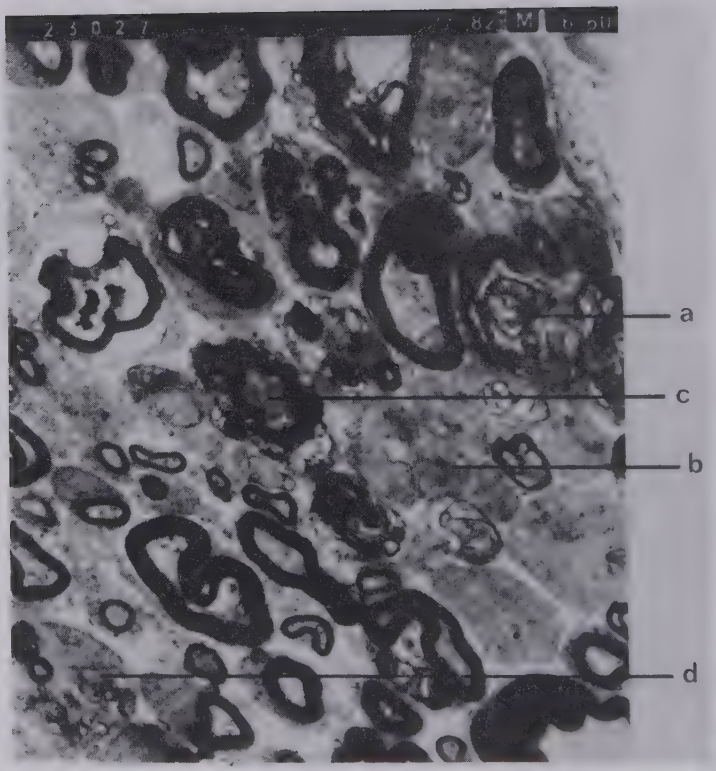

Abb. 18: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von AH 26

Vergrößerung: 1 : 4000

a = Endstadium des Faserzerfalls

b = Vollkommen untergegangener Bezirk

c = Axon- und Myelinscheidenzerfall

d = Makrophage

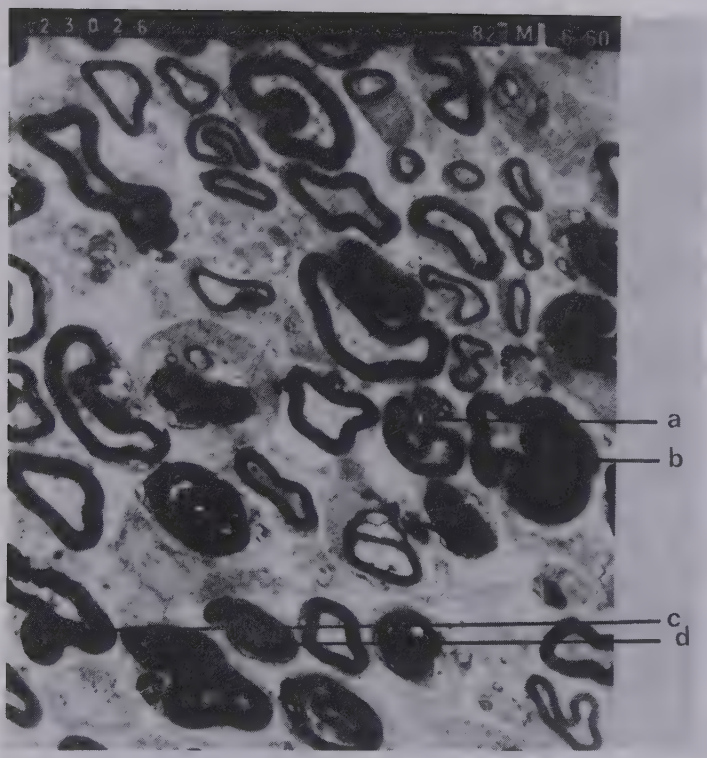

Abb. 19: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von AH 26

Vergrößerung: 1 : 4000

a = beginnende Einrollung der Myelinscheide

b = schwere Einrollung der Myelinscheide (kurz vor dem Zerfall)

c = beginnende Einrollung der Myelinscheide

d = primäre Axondegeneration

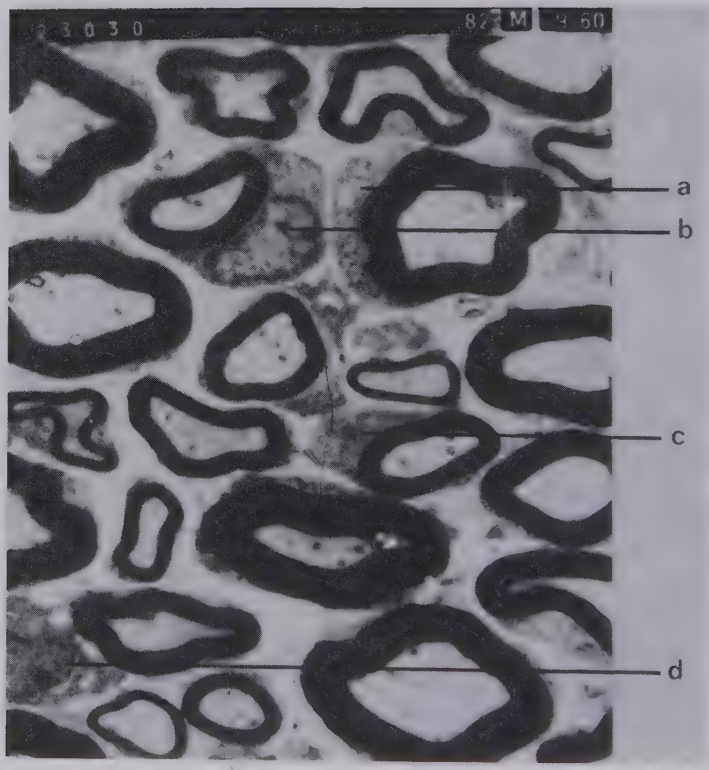

Abb. 20: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von AH 26

Vergrößerung: 1 : 8 000

a = Vakuole

b = Cytoplasmahypertrophie

c = Ribosomenvermehrung

d = Fibroblast

Die Ausschnittsvergrößerung des totalen Schädigungsbezirkes (Abb. 21) unterstreicht das Gesagte eindrucksvoll.

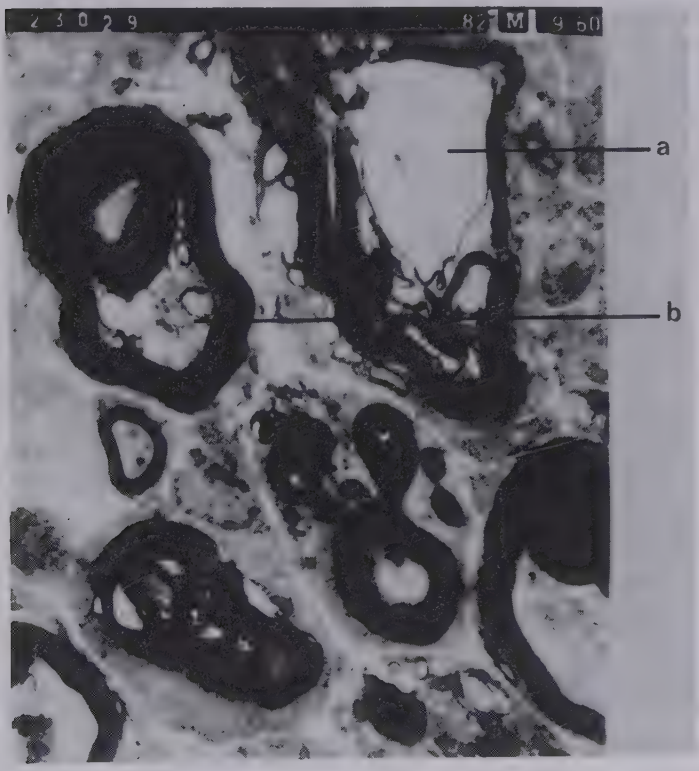

Abb. 21: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von AH 26

Vergrößerung: 1 : 8 000

a = Endstadium des Faserzerfalls

b = Faser mit beginnendem Myelinzerfall und beginnender Axondegeneration

3.1.5.3. AH 26

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
In diesem Nervenfaseruntergangsgebiet (Abb. 22) findet man nicht die erwartete sekundäre Waller`sche Faserdegeneration, bei der das Axon in charakteristischer Weise verändert ist, sondern eine primäre Degeneration der Markscheide.

Bei der Ausschnittsvergrößerung desselben Nervenfaserquerschnitts (Abb. 23) findet sich ein sehr schönes Exemplar eines Myelophagen.

3.1.5.4. AH 26

Versuchsdauer: 14 Tage
Schnittebene : proximaler Nervenanteil
In Abbildung 24 imponieren verhältnismäßig viele Schmitt-Lantermann`sche Einkerbungen. Ansonsten zeigt sich ein durchaus als normal zu bezeichnendes Faserspektrum.

3.1.5.5. AH 26

Versuchsdauer: 14 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Es zeigen sich Nervenfaserstrukturen die offensichtlich nicht von der Schädigung erreicht wurden, oder aber bereits Regenerationsprozesse durchgemacht haben. Es wäre auch eine segmentale Demyelinisierung denkbar, da doch relativ große Axone von verhältnismäßig dünnen Markscheiden umgeben sind.
Auffällig jedoch sind die verhältnismäßig geschwollenen Schwann`schen Zellen, sowie das relativ dichte Axoplasma einiger markhaltiger Fasern (Abb. 25).

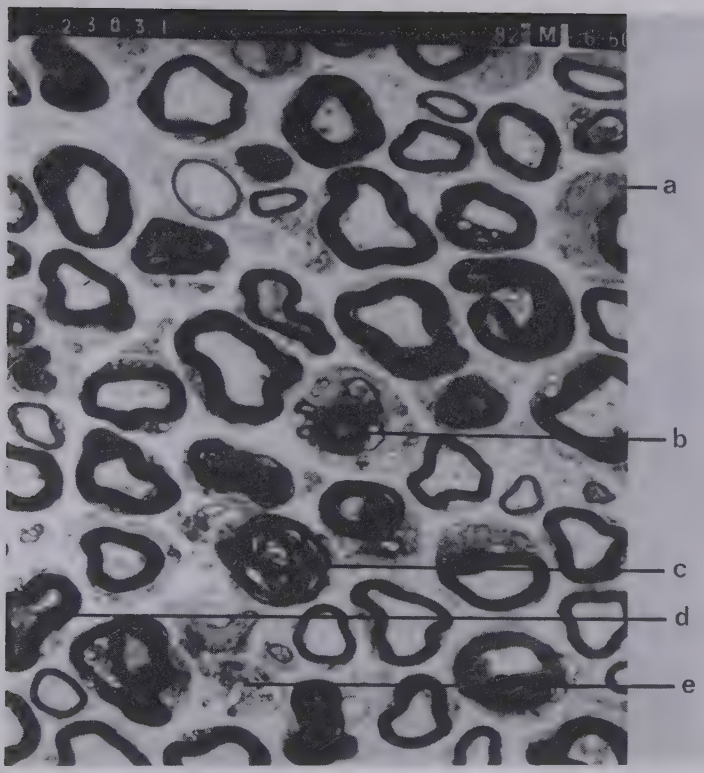

Abb. 22: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von AH 26, distal der Aufbrigungsstelle

Vergrößerung: 1 : 4000

a = Aktivierung einer Schwann`schen Zelle

b = Myelinzerfall

c = Myelinzerfall

d = Axondegeneration

e = Teil eines Myelophagen

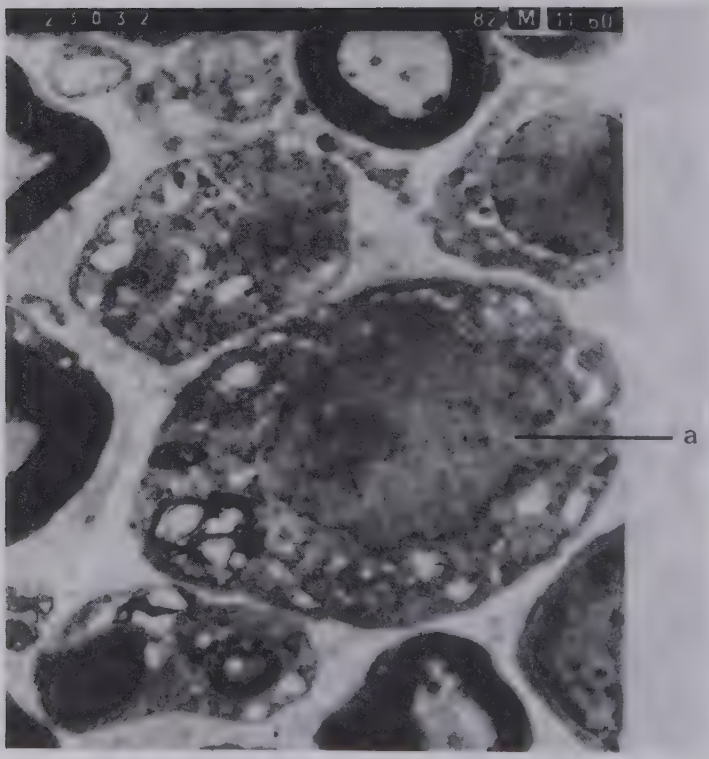

Abb. 23: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Aufbringung von AH 26, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 12 800

a = Myelophage

Abb. 24: N. mandibularis der Ratte 14 Tage nach Aufbringung von AH 26, proximal der Applikationsstelle

Vergrößerung: 1 : 4000

a = Schmitt-Lantermann`sche Einkerbung

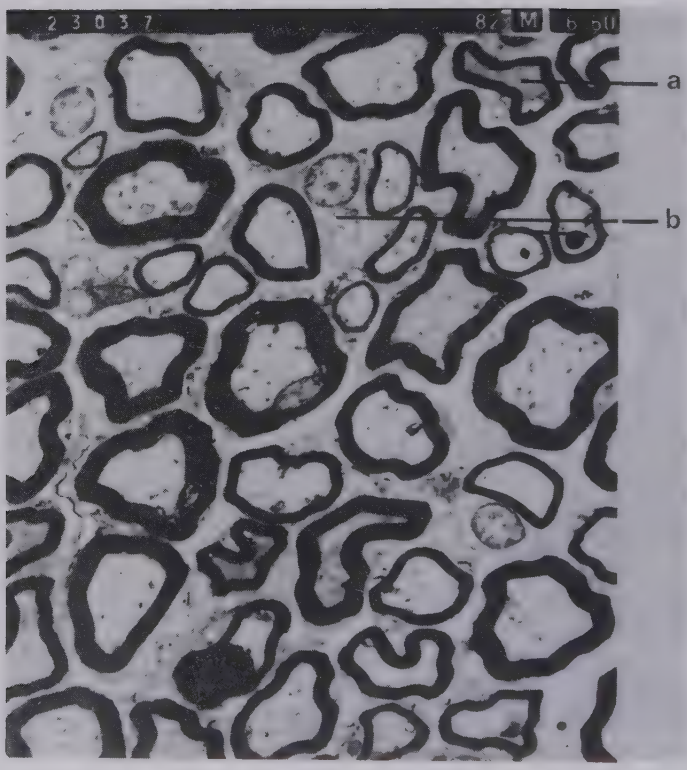

Abb. 25: N. mandibularis der Ratte 14 Tage nach Applikation von AH 26

Vergrößerung: 1 : 4000

a = dichtes Axoplasma

b = geschwollene Schwann`sche Zelle

3.1.5.6. AH 26

Versuchsdauer: 14 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
Die Übersicht (Abb. 26) zeigt ein regelrechtes Faserspektrum mit Gruppen von Axonen mit relativ dünnen Markscheiden, sogenannte Cluster, was differentialdiagnostisch auf eine ablaufende Regeneration hindeutet.
Auffällig sind auch einige hypertrophe Schwann`sche Zellen.

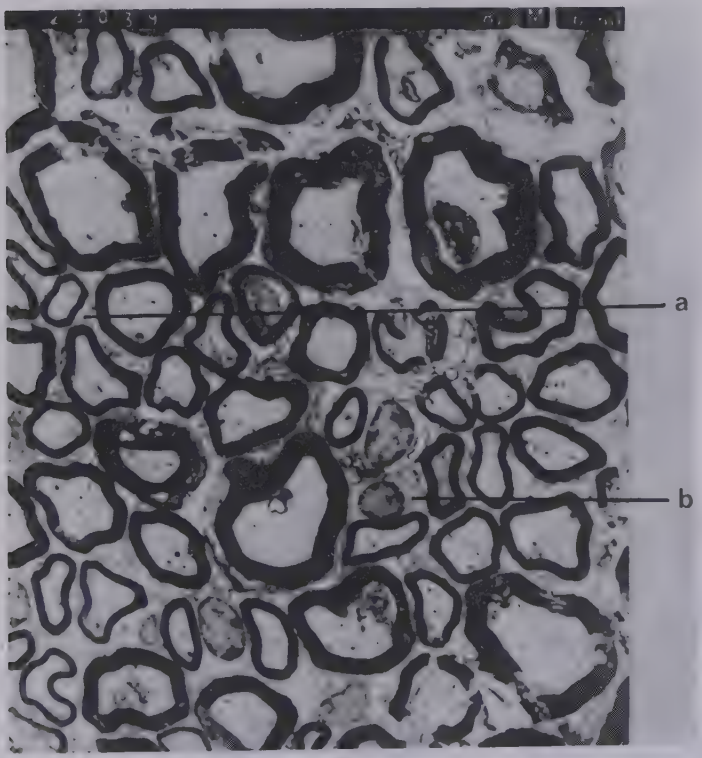

Abb. 26: N. mandibularis der Ratte 14 Tage nach Applikation von AH 26, distaler Nervenanteil
Vergrößerung: 1 : 4000
a = Cluster
b = hypertrophe Schwann`sche Zelle

3.1.5.7. AH 26

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Es zeigen sich hier vermehrt Axone mit relativ dünnen Markscheiden, was an Regenerate denken läßt. Einige besonders dunkle Axone sind wahrscheinlich auf einen Schrumpfungsprozeß an der Faser zurückzuführen (Artefakt). Auch ansonsten dominieren Artefakte wie intramyelinäre Spaltbildungen und eine Zerreißung des Endoneuriums (Abb. 27).

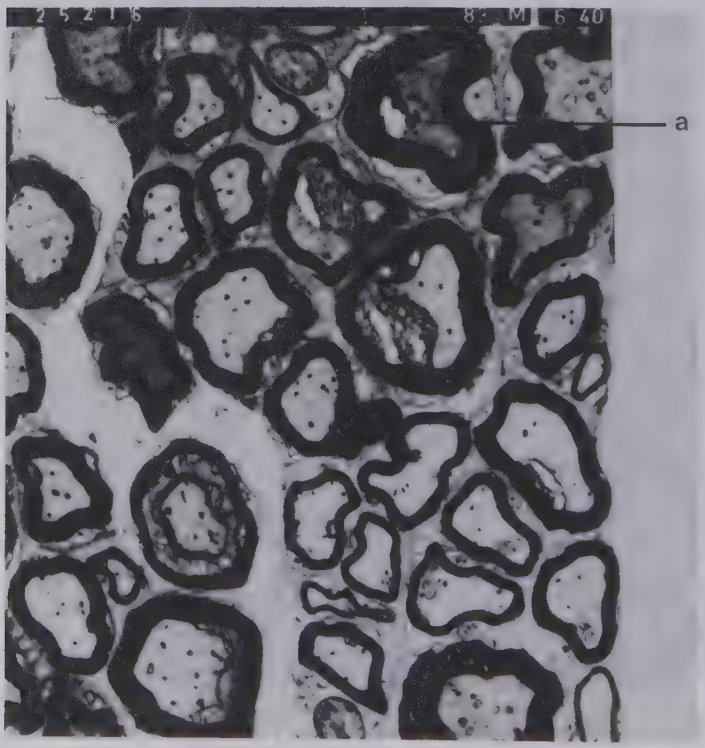

Abb. 27: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von AH 26
Vergrößerung: 1 : 4000
a = dunkles, verdichtetes Axoplasma

3.1.5.8. AH 26

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : distaler Nervenanteil
Die Übersicht zeigt insgesamt ein ruhiges Faserbild mit kleinen Gruppen von Nerven mit dünner Markscheide. Auch eine sich im Untergang befindliche Nervenfaser ist zu erkennen. Die Nerven weisen leichte, bereits beschriebene Artefakte auf (Abb. 28).

3.1.5.9. Klassifikation der festgestellten Schädigung:

Nach Applikation von AH 26 lassen sich folgende Schädigungen feststellen:

1. Am 3.ten Tag postoperativ im proximalen Nervenanteil finden sich Veränderungen im Cytoplasma der Schwann`schen Zellen.

2. Am 3.ten Tag postoperativ an der Aufbringungsstelle zeigen sich sowohl Veränderungen im Cytoplasma der Schwann`schen Zellen, primäre Demyelinisierung, primäre Axondegeneration als auch eine gleichzeitige Axon- und Myelinscheiden-Schädigung.

3. Am 3.ten Tag postoperativ im distalen Nervenanteil findet sich eine primäre Demyelinisierung.

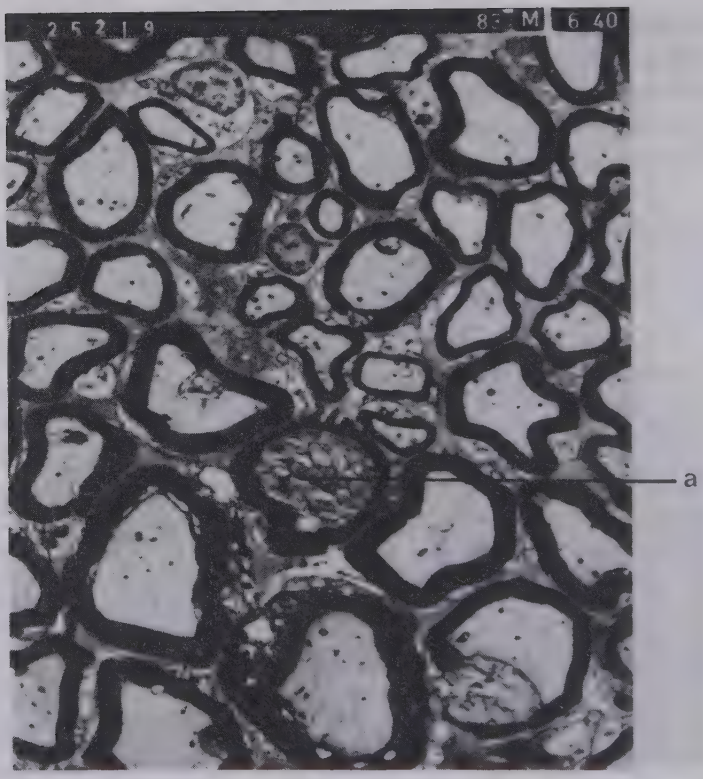

Abb. 28: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von AH 26, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 4000

a = dramatischer Faseruntergang

3.1.6. Asphaline A

3.1.6.1. Asphaline A

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
In der Abbildung 29 imponiert eine massive Faserschädigung. Man findet Myelinzerfall, sekundäre Axonschädigung sowie Myelinphagozytose.
Die Myelinschädigung erfolgt über eine Vakuolenbildung der Markscheide durch intramyelinäre Ödeme. Es zeigen sich phagozytierte Myelinfragmente, degenerierende Markscheiden und degenerierende Achsenzylinder, sowie zum Teil konfluierende große Plasmavakuolen im Zellplasma.

3.1.6.2. Asphaline A

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
Die Art des Untergeanges der Nervenfasern weist auf eine typische Waller`sche Faserdegeneration der markhaltigen Fasern hin. Es handelt sich um eine sekundäre Demyelinisierung infolge einer Axondegeneration, erkennbar an der Zusammenballung des inhomogenen Axoplasmas. Die Abbildung 30 zeigt sowohl ein frühes als auch ein fortgeschrittenes Stadium der sekundären Waller´schen Faserdegeneration. Es ist nur noch ein intaktes Axon sichtbar.

Im Zentrum der Ausschnittsvergrößerung (Abb. 31) erkennt man als Reaktion des Bindegewebes (Endoneurium) einen aktivierten Fibroblasten mit stark erweitertem endoplasmatischem Retikulum. Diese Fibroblasten lassen möglicherweise Phagozytosebereitschaft erkennen. Infolge der Bindegewebsreaktion wirkt die Struktur des Nerven als solche aufgelockert.
Der Fibroblast im Proliferationsstadium ist durch dichtes endoplasmatisches Retikulum gekennzeichnet, wobei die endoplasmatischen Räume mit dichter zart granulierter

Substanz erfüllt sind.
Die Nervenfasern zeigen verschiedene Degenerationsarten wie Axonödem und Axonzerfall sowohl mit als auch ohne Myelinschädigung.

Die Abbildung 32 zeigt eine sekundäre Waller`sche Faserdegeneration im frühen Stadium. Charakteristisch ist die große Anzahl von Filamenten, Mitochondrien, Vesikeln, Tubuli und dense-bodies im Axoplasma. Die Markscheiden sind noch erhalten.

3.1.6.3. Asphaline A

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Die Übersichtsaufnahme (Abb. 33) zeigt regelrechte Faserspektren mit markhaltigen, marklosen und Nervenfasern mit verhältnismäßig zu dünner Markscheide, die den Eindruck erwecken, es handle sich um Regenerate.
Es gibt keinen Anhalt für pathologische Veränderungen.

3.1.6.4. Asphaline A

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
Es sind keine pathologischen Befunde zu erheben. Lediglich der Verdacht der Regeneratbildung ergibt sich aufgrund der im Durchschnitt zu hohen Anzahl von zu dünn erscheinenden Nervenfasern.
Auffallend sind zudem die zahlreichen Cluster von marklosen Fasern.
Man erkennt außerdem sogenannte Quetschartefakte, die 1960 (!) als pathologische Veränderungen beschrieben wurden (Abb. 34).

Die Abbildung 35 desselben Nervenfaserquerschnittes vermittelt aufgrund der großen Anzahl von "zu dünnen" Markscheiden den Eindruck, man habe Regenerate vor sich.

3.1.6.5. Klassifikation der festgestellten Schädigung:

Nach Applikation von Asphaline A lassen sich am 3.ten postoperativen Tag sowohl eine Myelinscheiden- als auch eine Axonschädigung feststellen.

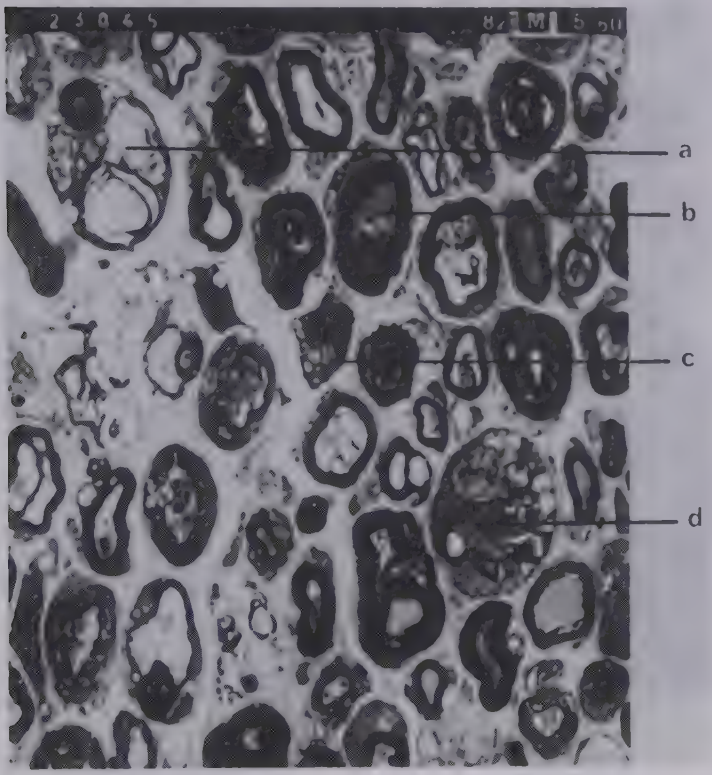

Abb. 29: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Asphaline A

Vergrößerung: 1 : 4000

a = Degenerierende Markscheide

b = Degenerierender Achsenzylinder

c = Zelle mit Plasmavakuolen

d = Myelophag

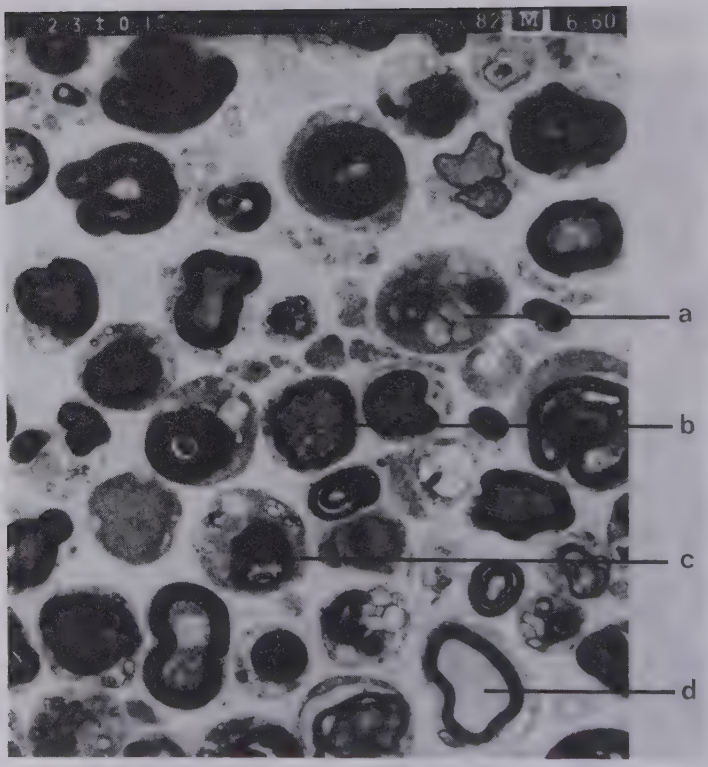

Abb. 30: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Asphaline A, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 4000

a = Myelophag

b = frühes Stadium der Waller`schen Faserdegeneration

c = fortgeschrittenes Stadium der Waller`schen Faserdegeneration

d = intaktes Axon

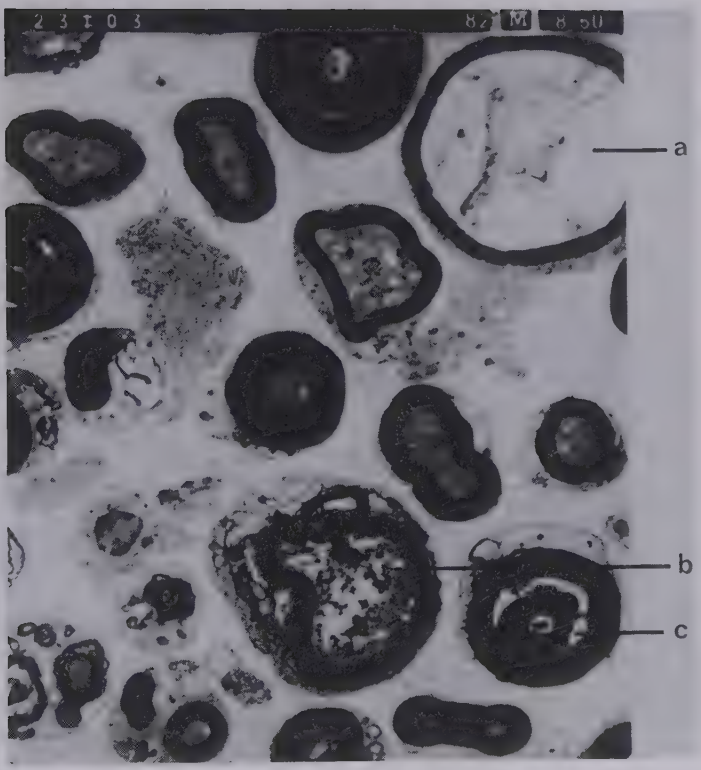

Abb. 31: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Asphaline A, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 6 400

a = Axonödem

b = Axonzerfall

c = Myelinschädigung

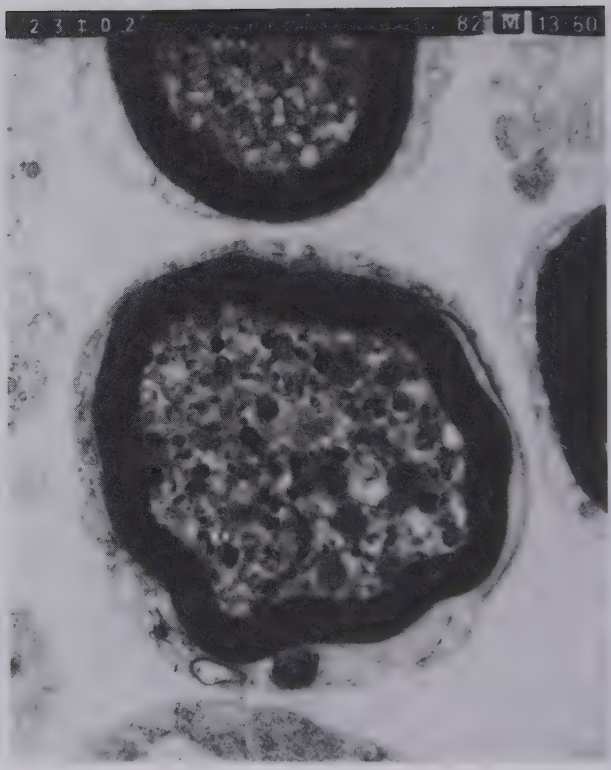

Abb. 32: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Asphaline A, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 20 000

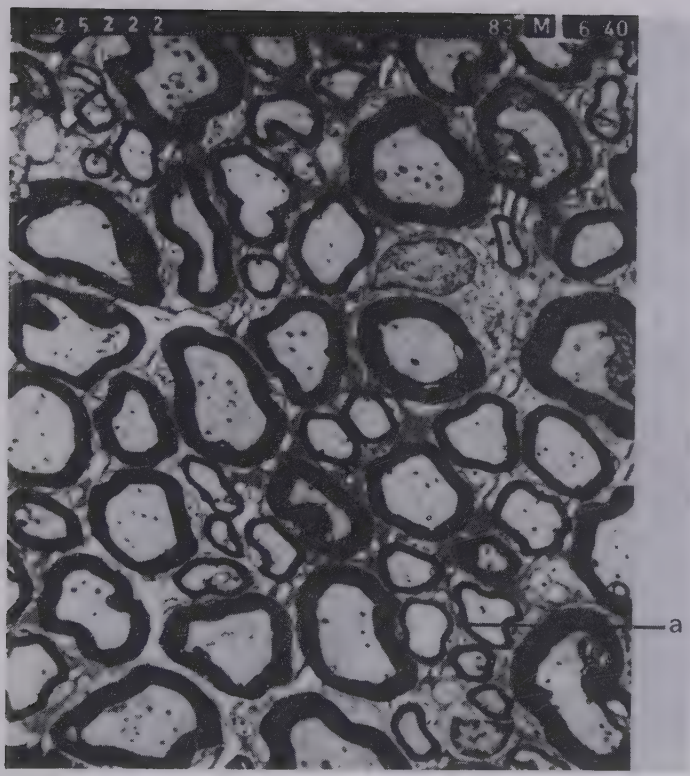

Abb. 33: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Asphaline A

Vergrößerung: 1 : 4000

a = Beispiel einer Faser mit zu dünner Markscheide

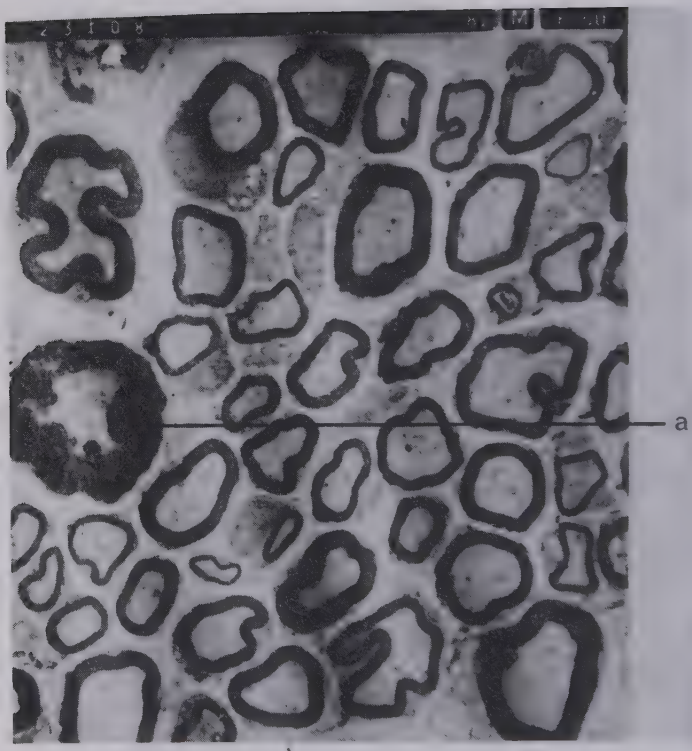

Abb. 34: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Asphaline A, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 4000

a = Quetschartefakt

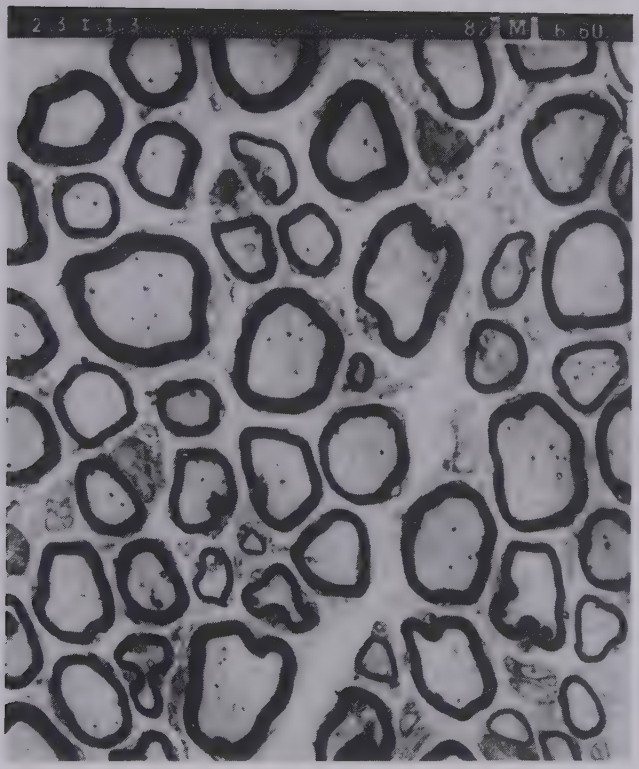

Abb. 35: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Asphaline A, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 4000

3.1.7. Endomethasone

3.1.7.1. Endomethasone

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Die Übersichtsvergrößerung (Abb. 36) zeigt deutlich einen primären Markscheidenzerfall. Nur vereinzelt erkennt man eine primäre Axonschädigung was ebenfalls eine Markscheidendegeneration zur Folge hat. (Markscheiden allein können sich nicht halten).
Ebenfalls sind bereits reaktive Veränderungen der Schwann`schen Zelle zu erkennen.
Insgesamt findet sich eine massive Faserschädigung in Richtung einer totalen Faserdegeneration.

3.1.7.2. Endomethasone

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
Dieser Nervenquerschnitt (Abb. 37) deutet auf eine schwere primäre Schädigung hin. Der größte Teil der Fasern ist vernichtet. Eine reaktive Veränderung ist nicht sichtbar.
Das Bild der Schädigung gleicht dem der Aufbringungsstelle nach 3 Tagen.

3.1.7.3. Endomethasone

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Die Übersichtsvergrößerung der Applikationsstelle (Abb. 38) zeigt einen vollkommen wiederhergestellten Nerven nach 61 Tagen, ohne irgendwelche deutlich erkennbaren oder zurückgebliebenen Anzeichen der vorausgegangenen schweren Schädigung.
In diesem regelrechten Axonbild sind einige kleinere Axone mit relativ dünnen Markscheiden die einzigen schwachen Anzeichen für eine stattgefundene Regeneration.

Die Ausschnittsvergrößerung (Abb. 39) zeigt sogenannte μ - Körper im inneren Hüllplasma, einen physiologischen Zufallsbefund.
Kein Anhaltspunkt für ein pathologisches Geschehen.

3.1.7.4. Endomethasone

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
Die Abbildung 40 weist im Prinzip die gleichen Strukturen auf, wie die an der Aufbringungsstelle nach 61 Tagen. Auch hier besteht der Verdacht auf Regenerationen und Remyelinisierungen in Teilbereichen, d.h. regelrechte Faserspektren mit zu dünn erscheinender Markscheide.

3.1.7.5. Klassifikation der festgestellten Schädigung:

Nach Applikation von Endomethasone lassen sich am 3.ten postoperativen Tag sowohl ein primärer Markscheidenzerfall als auch eine primäre Axondegeneration feststellen. Ebenfalls erkennt man reaktive Veränderungen an den Schwann`schen Zellen.

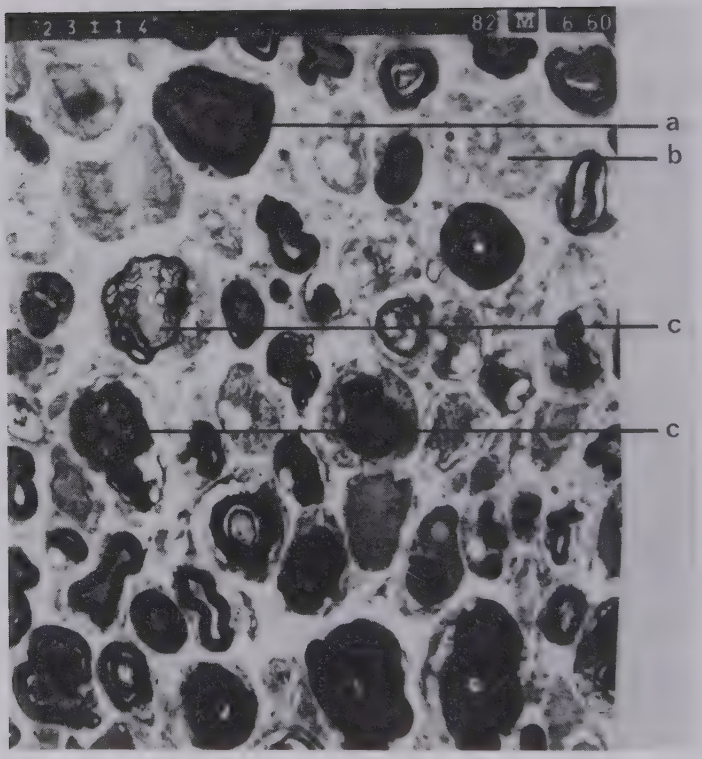

Abb.36: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Endomethasone

Vergrößerung: 1 : 4000

a = primäre Axonschädigung

b = reaktive Veränderung der Schwann`schen Zelle

c = primärer Markscheidenzerfall

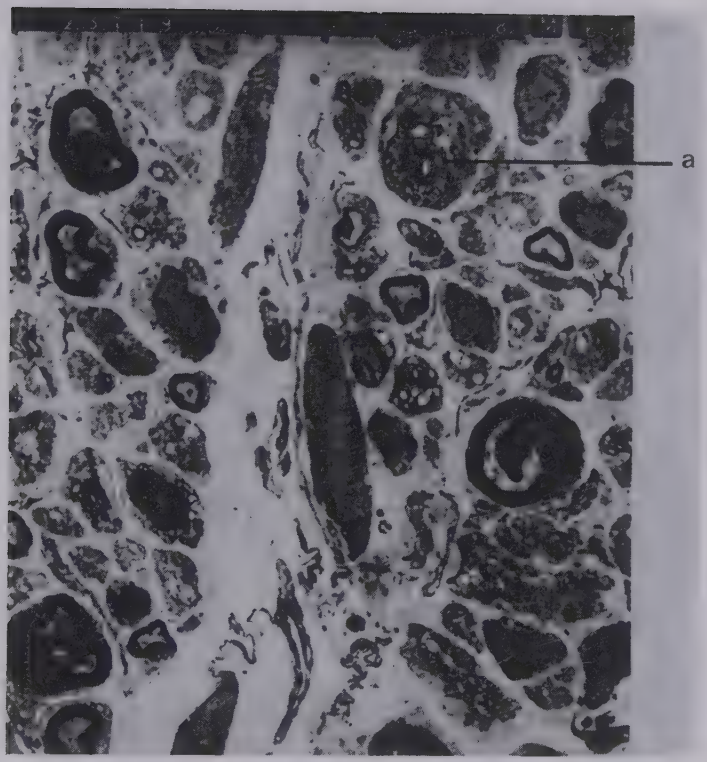

Abb. 37: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Endomethasone, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 4000

a = Myelophage

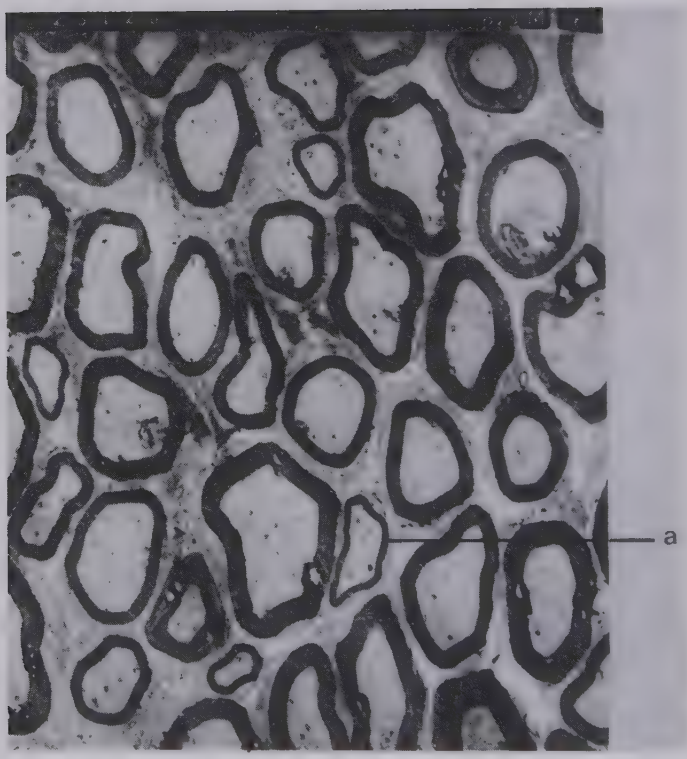

Abb. 38: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Endomethasone

Vergrößerung: 1 : 4000

a = Beispiel einer dünnen Markscheide

Abb. 39: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Endomethasone

Vergrößerung: 1 : 12 800

a = μ - Körper

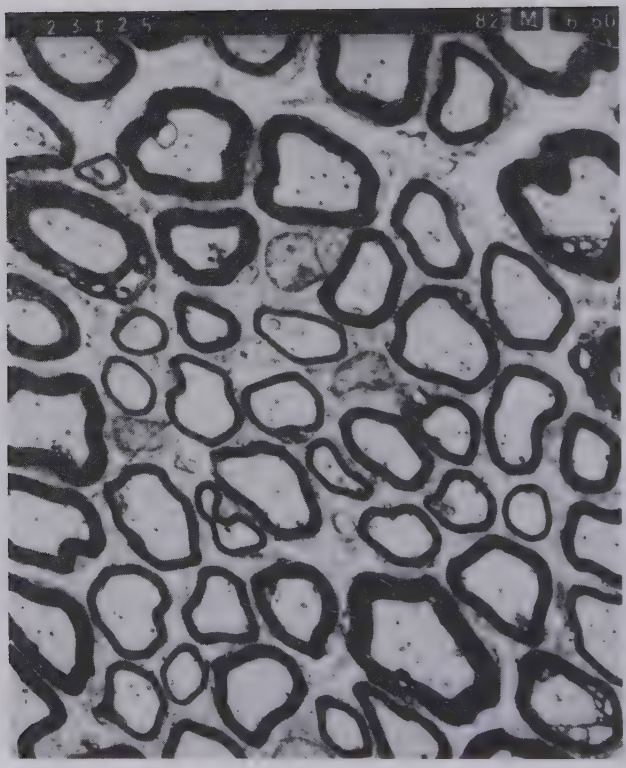

Abb. 40: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Endomethasone, distal der Aufbringungsstelle

Vergrößerung: 1 : 4000

3.1.8. Calxyl

3.1.8.1. Calxyl

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Man erhält in der Übersichtsaufnahme (Abb. 41) einen Hinweis auf eine besonders heftige Schädigung, da einige Fasern schon nicht mehr vorhanden sind. Dies deutet auf einen raschen Zerfall hin.
Wieder andere Nervenfasern zeigen reaktiv verändertes Cytoplasma der Schwann`schen Zellen.
Am unteren Bildrand erkennt man eine simultane Axon- und Myelinschädigung.

3.1.8.2. Calxyl

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
In der Abb. 42 erkennt man das auch distal der Applikationsstelle aufgetretene hohe Maß an Schädigung der Nervenfaser. Allerdings handelt es sich hierbei nicht um eine erwartete Waller`sche Faserdegeneration, sondern um das Bild einer primären Nervenfaserschädigung.
Als Schnittartefakt erkennt man sogenannte Chatters, welche durch geringfügige Abweichungen in der Schnittdicke charakterisiert sind.

Die Abbildung 43 zeigt deutlich weniger geschädigte Bezirke desselben Nervenquerschnittes. Hier dominieren reaktive Veränderungen.

Die Detailvergrößerung in Abb. 44 illustriert eine organelle Axonauftreibung. Es handelt sich also um eine reaktive Axonveränderung, die nach jeder Art von Schädigung zu beobachten ist. Im Zentrum der Nervenfaser sind Mitochondrien, Filamente, Lysosomen und endoplasmatisches Retikulum zu erkennen.

3.1.8.3. Calxyl

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Dieser Nervenquerschnitt zeigt regelrechte Faserspektren. Lediglich die Markscheiden erscheinen alle insgesamt etwas zu dünn. Auch hier drängt sich nach der vorhergehenden massiven Schädigung der Verdacht einer Regeneration und Remyelinisierung auf (Abb. 45).
Auch die verbreiterten Räume zwischen den Markscheiden deuten auf eine abgelaufene Regeneration.

3.1.8.4. Calxyl

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
Die Abbildung 46 zeigt eine regelrechte Faseranordnung. Es sind keine pathologischen Veränderungen auffällig. Die Zwischenräume zwischen den Myelinscheiden sind insgesamt zu groß, erfüllt von Schwann`schen Zellfortsätzen und marklosen Fasern in erhöhter Zahl.

3.1.8.5. Klassifikation der festgestellten Schädigung:

Nach Applikation von Calxyl lassen sich am 3.ten postoperativen Tag eine gleichzeitige Myelinscheiden und Axonschädigung und eine reaktive Axonveränderung feststellen.

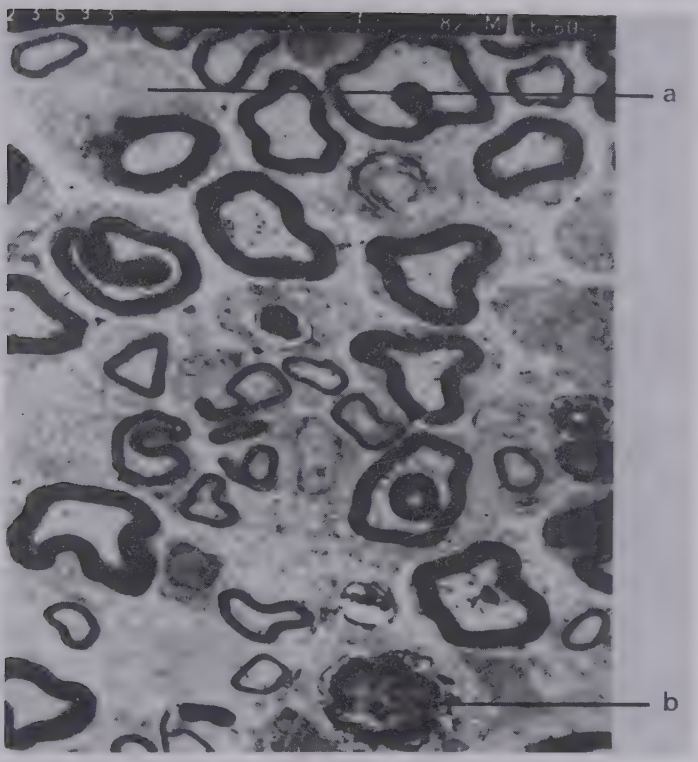

Abb. 41: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Calxyl

Vergrößerung: 1 : 4000

a = reaktive Cytoplasmaveränderung

b = simultane Axon- und Myelindegeneration

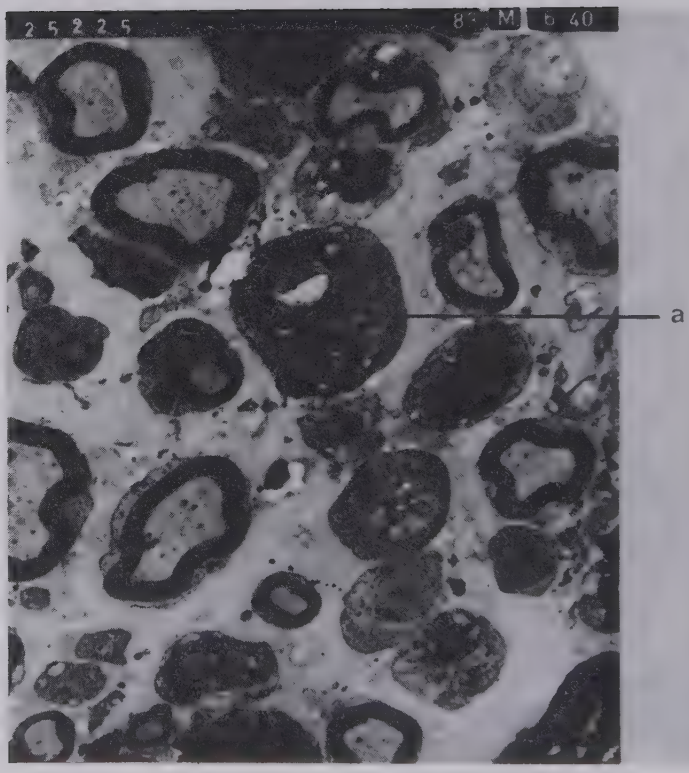

Abb. 42: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Calxyl, distaler Nervenanteil, geschädigter Bezirk

Vergrößerung: 1 : 4000

a = schwer geschädigte Nervenfaser

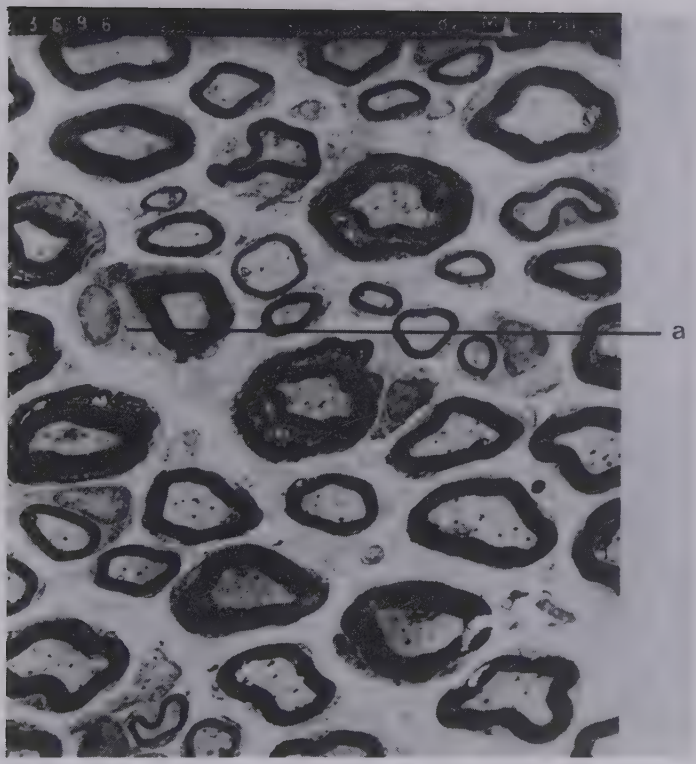

Abb. 43: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Calxyl, distaler Nervenanteil, intakter Bezirk

Vergrößerung: 1 : 4000

a = reaktiv veränderte Schwann`sch Zelle

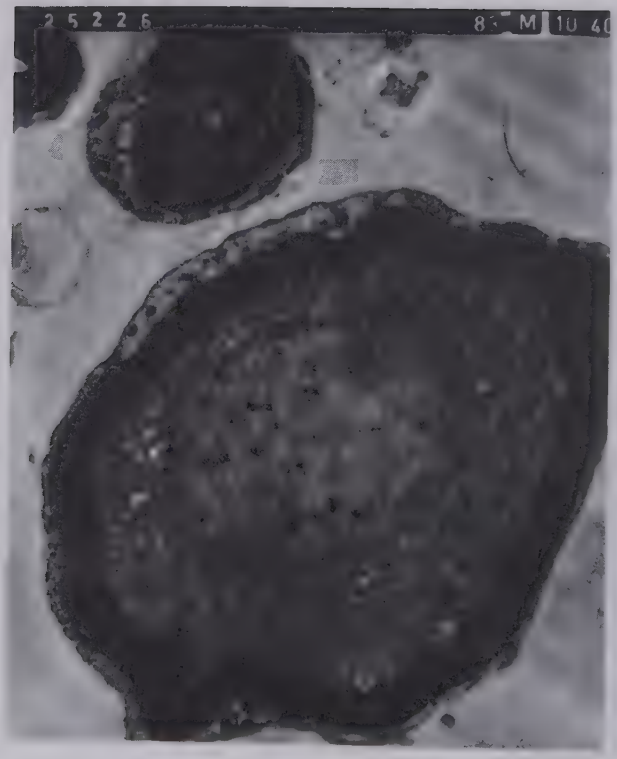

Abb. 44: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Calxyl, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 10 080

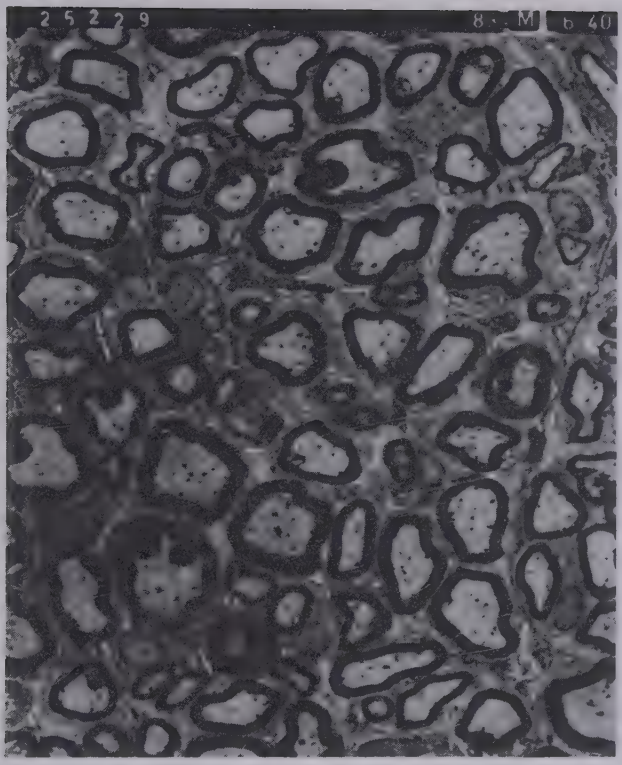

Abb. 45: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Calxyl

Vergrößerung: 1 : 4000

Abb. 46: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Calxyl, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 4000

3.1.9. Cresytin W

3.1.9.1. Cresytin W

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
In Abbildung 47 ist eine sehr schwere Nervenfaserschädigung zu erkennen. Es zeigt sich eine massive reaktive Veränderung der Schwann`schen Zellen. Es dominiert in erster Linie eine primäre Myelindegeneration. Sekundäre Axonschädigungen sind ebenfalls wie auch vereinzelte primäre Axondegenerationen sichtbar.
Es zeigt sich letztlich eine totale Faserdegeneration.

3.1.9.2. Cresytin W

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
Im Zentrum der Abbildung 48 erkennt man eine intakte Nervenfaser. Ansonsten findet man einen vollkommen geschädigten Nerven. Man sieht die aufgesplitterten Myelinscheiden, degenerierende Achsenzylinder und Myelophagen. Insgesamt imponiert also eine totale Faserschädigung.

Das Bild 49 zeigt in der Ausschnittsvergrößerung einen Myelophagen, der sich aus einer Schwann`schen Zelle entwickelt hat. Ebenfalls findet sich eine eindeutige axonale Degeneration.

3.1.9.3. Cresytin W

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Es sind keine pathologischen Veränderungen auffällig. Vereinzelt sind Cluster vo Axonen mit relativ zu dünner Markscheide sichtbar, die Regenerate vermuten lassen. (Abb. 50).

3.1.9.4. Cresytin W

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
Es sind keine pathologischen Befunde zu erheben. Auch hier wieder die sogenannte Cluster-Bildung, die auf Regenerate hindeutet (Abb. 51).

3.1.9.5. Klassifikation der festgestellten Schädigung:

Nach Applikation von Cresytin W lassen sich am 3.ten postoperativen Tag sowohl ein primärer Markscheidenzerfall als auch eine primäre Axondegeneration feststellen. Ebenfalls erkennt man reaktive Veränderungen an den Schwann`schen Zellen.

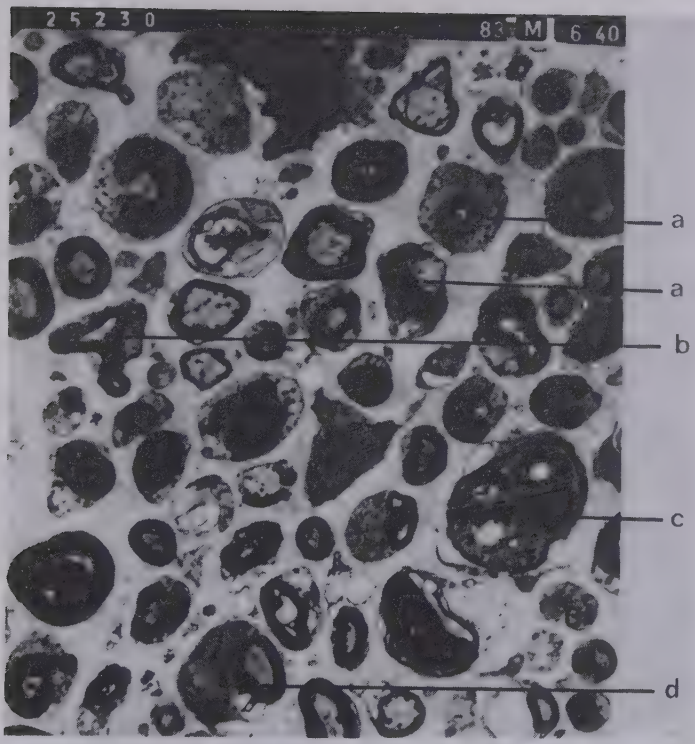

Abb. 47: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Cresytin W

Vergrößerung: 1 : 4000

a = sekundäre Axonschädigung

b = primäre Axonschädigung

c = primäre Myelindegeneration

d = reaktive Veränderung der Schwann`schen Zelle

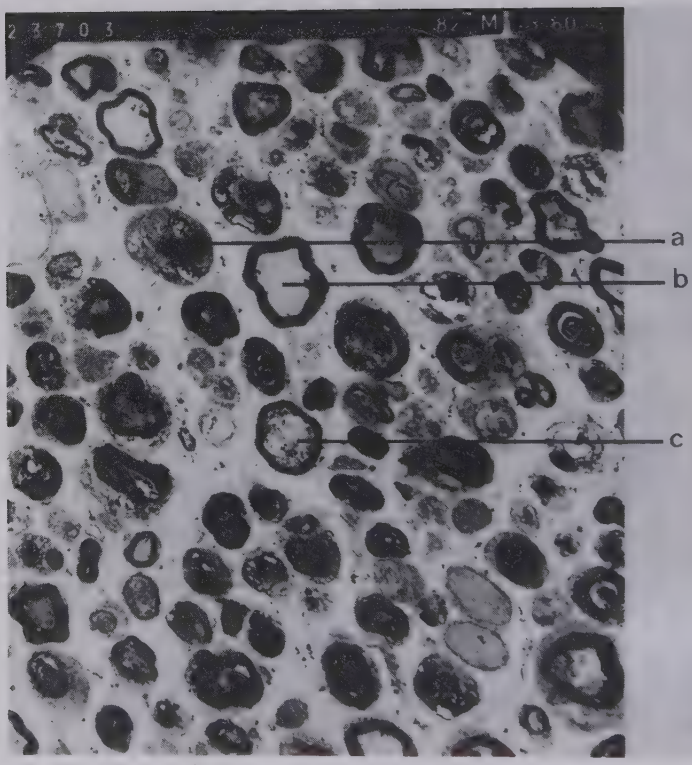

Abb. 48: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Cresytin W, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 2000

a = Myelophage

b = intakte Nervenfaser

c = degenerierender Achsenzylinder

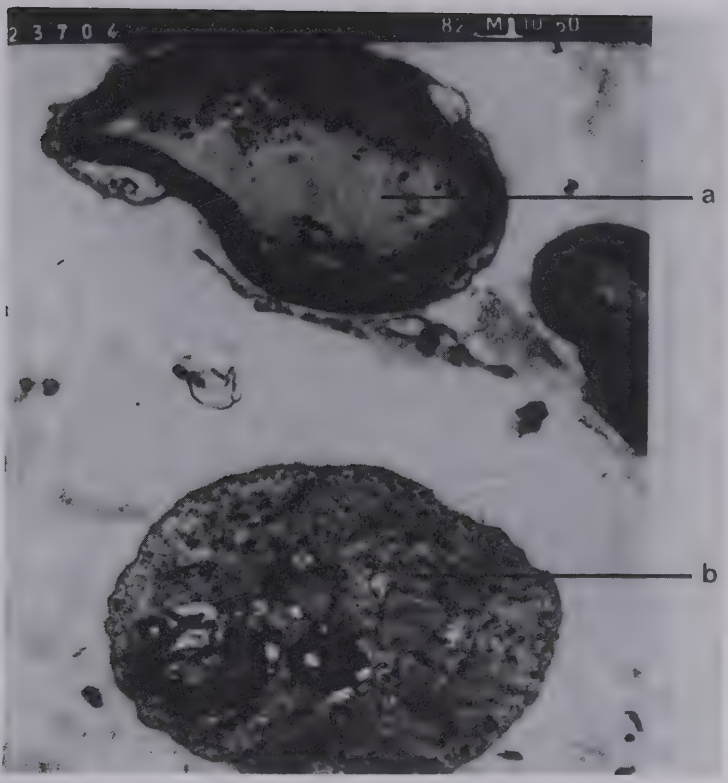

Abb. 49: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Cresytin W, distaler Nervenanteil. Vergrößerung: 1 : 10 080

a = axonale Degeneration

b = Myelophage

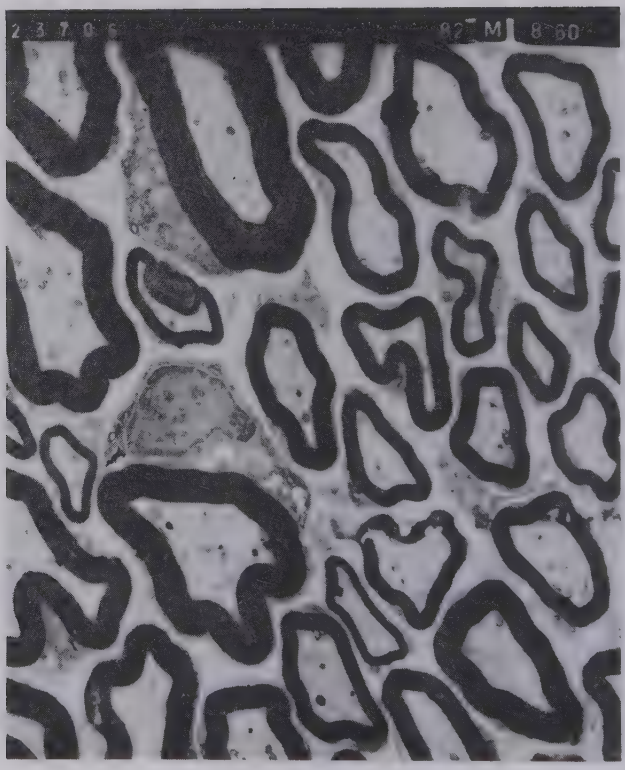

Abb. 50: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Cresytin W

Vergrößerung: 1 : 6400

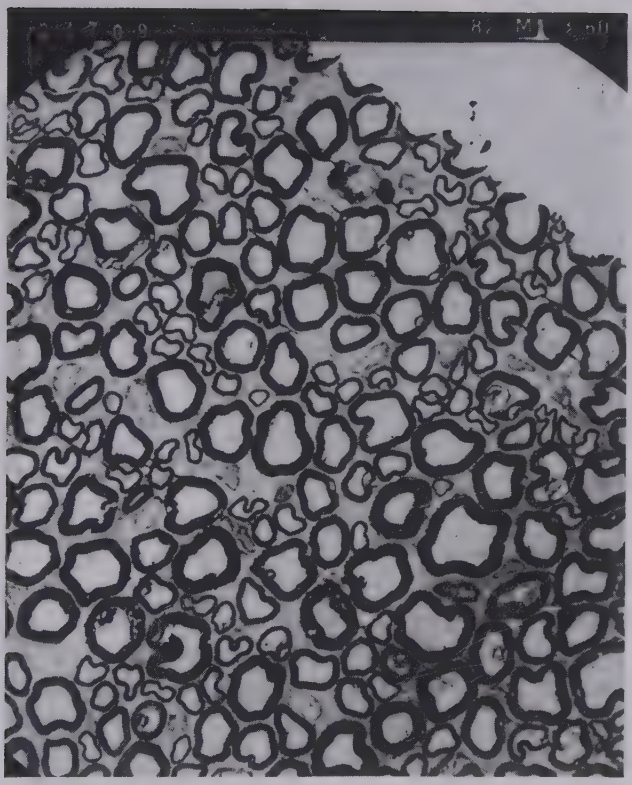

Abb. 51: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Cresytin W, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 2000

3.1.10. Amalgam

3.1.10.1. Amalgam

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
In der Übersichtsaufnahme (Abb. 52) finden sich gehäuft eigenartige Myelinverformungen. Es könnte sich hierbei um Artefakte (Druckschädigungen) oder um pathologische Veränderungen handeln. Jedoch spricht die Tatsache, daß zwischen den Fasern zahlreiche intakte Nervenfasern vorkommen, gegen einen Artefakt. Es sind bereits Zeichen einer segmentalen Demyelinisierung erkennbar.

Man erkennt in der Detailvergrößerung (Abb. 53) vollkommen intakte Nervenfaserquerschnitte, sowie mehrere dieser eigentümlichen Myelinverformungen.

3.1.10.2. Amalgam

Versuchsdauer: 3 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
In Abbildung 54 imponieren primäre Axonschädigungen sowie reaktive Axonveränderungen. Die Myelinscheide ist in diesem Stadium der Schädigung zumeist erhalten. Es handelt sich hier offensichtlich um die direkte Schädigungsstelle.

Die Ausschnittsvergrößerung (Abb. 55) zeigt eindrucksvoll die reaktiven Axonveränderungen. Man findet vermehrtes glattes endoplasmatisches Retikulum, vermehrte Anzahl von Mitochondrien und eine erhöhte Anzahl von Lysosomen im Axoplasma.
Auch ist deutlich die axonale Degeneration erkennbar.

3.1.10.3. Amalgam

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : Aufbringungsstelle
Die Abbildung 56 zeigt ein Querschnittsbild, bei dem ein Fixierungs- und/oder Entnahmeartefakt mit Nervenfaserquerschnittsschrumpfung dominiert.
Es besteht kein Hinweis für eine pathologische Veränderung.

3.1.10.4. Amalgam

Versuchsdauer: 61 Tage
Schnittebene : distal der Aufbringungsstelle
Die Abbildung 57 zeigt eine einseitige Verformung der markhaltigen Nervenfasern. Es handelt sich dabei vermutlich um einen Entnahmeartefakt. Als Schnittartfakt sind sogenannte Scharten zu erkennen.
Es besteht kein Hinweis auf eine pathologische Veränderung.

3.1.10.5. Klassifikation der festgestellten Schädigung:

Nach Applikation von Amalgam lassen sich am 3.ten postoperativen Tag primäre Axonschädigungen sowie reaktive Axonveränderungen erkennen. Als Besonderheit hier die selektive Schädigung einiger markhaltiger Nervenfasern.

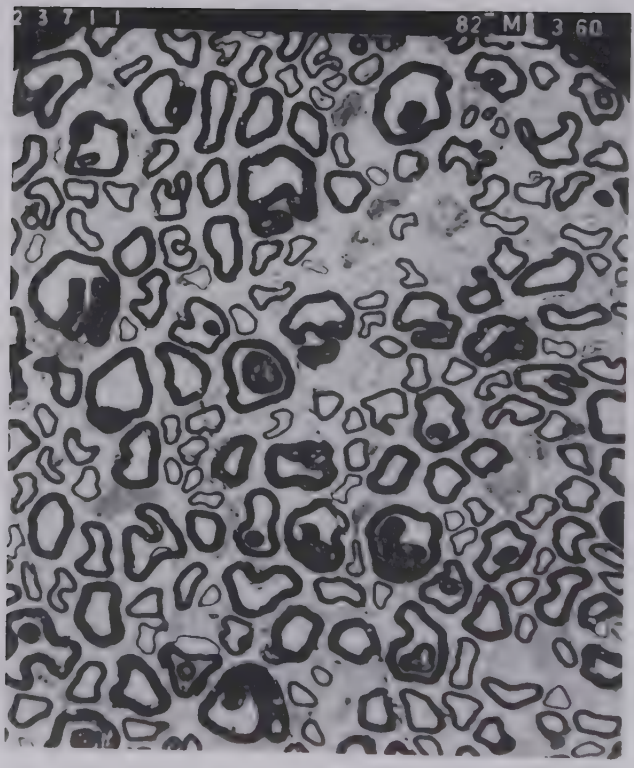

Abb. 52: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Amalgam

Vergrößerung: 1 : 2000

Abb. 53: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Amalgam

Vergrößerung: 1 : 4000

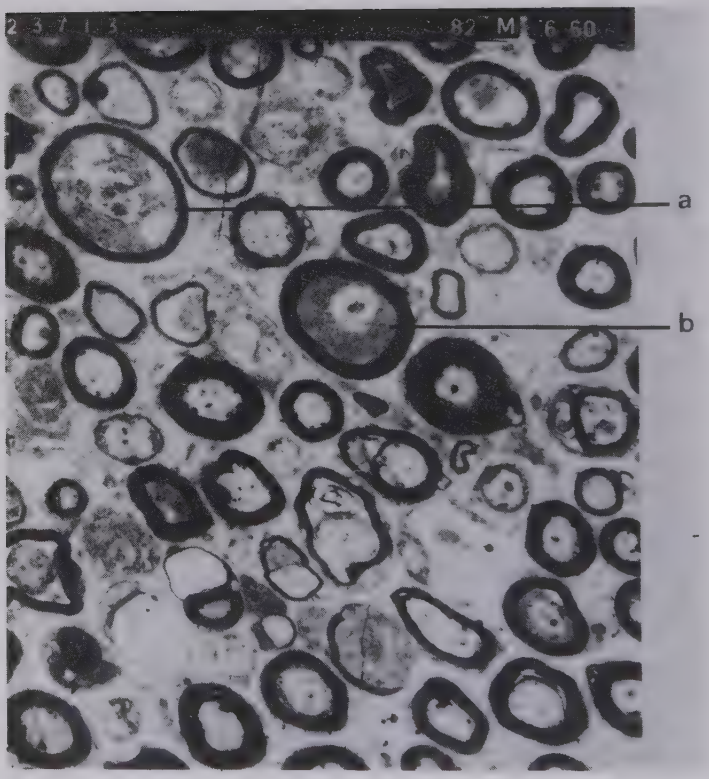

Abb. 54: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Amalgam, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 4000

a = degenerative Axonveränderung

b = reaktive Axonveränderung

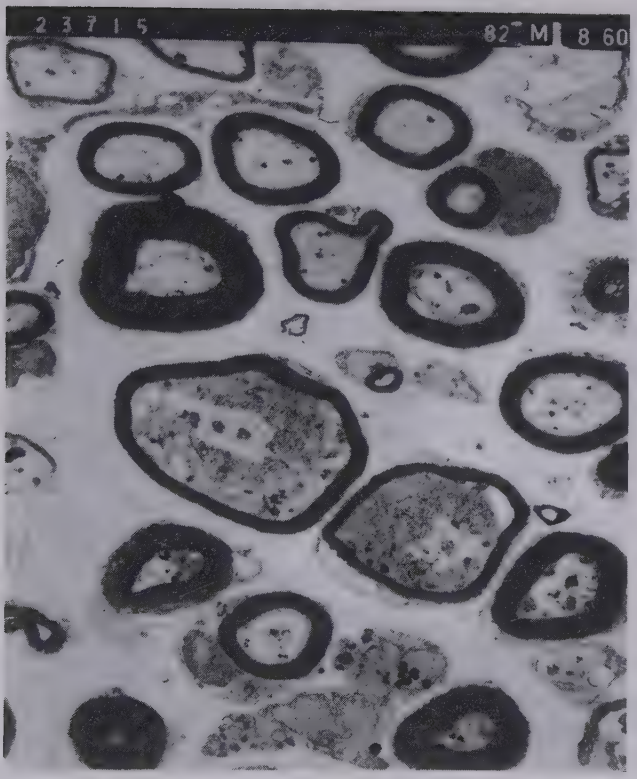

Abb. 55: N. mandibularis der Ratte 3 Tage nach Applikation von Amalgam, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 6400

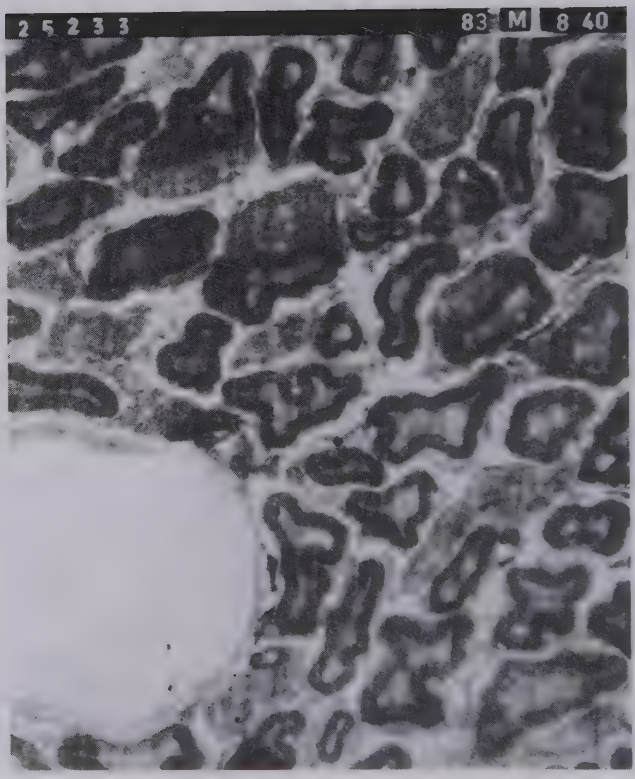

Abb. 56: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Amalgam

Vergrößerung: 1 : 6400

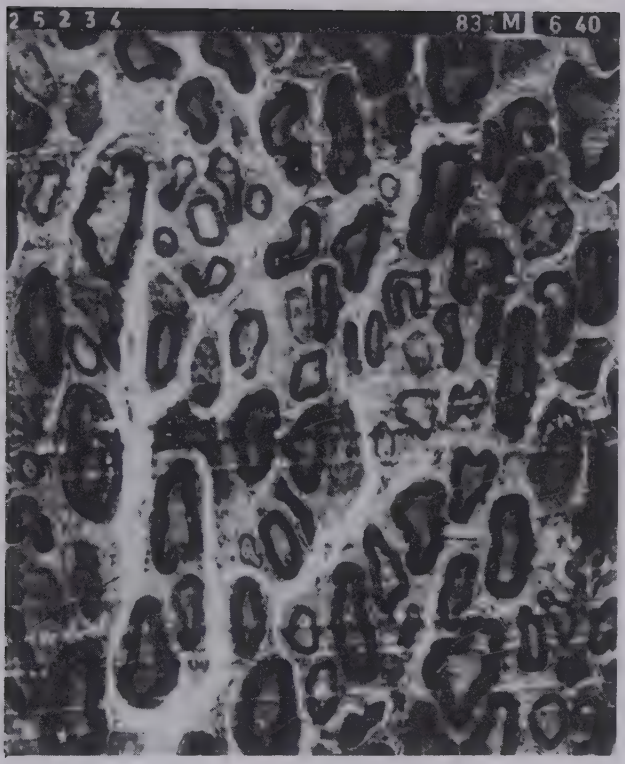

Abb. 57: N. mandibularis der Ratte 61 Tage nach Applikation von Amalgam, distaler Nervenanteil

Vergrößerung: 1 : 4000

3.2.

Schädigungstyp / Wurzelkanalfüllmaterial	A	B	C	D	E
Ledermix-Paste	x				
Dontisolon-Paste	x	x			
AH 26		x	x		
Asphaline A	x	x	x		
Endomethasone	x	x	x		
Calxyl	x	x	x	x	
Cresytin W	x	x	x		
Amalgam			x	x	x

Schaubild Nr. 1: Schaubild zeigt den Schädigungstyp beim jeweiligen Wurzelkanalfüllmaterial

A = Reaktive Cytoplasmaveränderungen
B = Primäre Demyelinisation
C = Primäre Axondegeneration
D = Reaktive Axonveränderungne
E = Selektive Schädigung markhaltiger Nervenfasern

3.3.

Schädigung an Aufbringungsstelle / Wurzelkanalfüllmaterial	3 Tage	61 Tage
Ledermix-Paste	gering	nein
Dontisolon-Paste	ja	nein
AH 26	ja	nein
Asphaline A	ja	nein
Endomethasone	ja	nein
Calxyl	ja	nein
Cresytin W	ja	nein
Amalgam	ja	nein

Schaubild Nr. 2: Elektronenmikroskopische Beurteilung des Nerven nach 3 bezw. 61 Tagen
Lokalisation: Aufbringungsstelle

3.4.

Schädigung distal der Aufbringungsstelle / Wurzelkanalfüllmaterial	3 Tage	61 Tage
Ledermix-Paste	---	nein
Dontisolon-Paste	---	nein
AH 26	ja	nein
Asphaline A	ja	nein
Endomethasone	ja	nein
Calxyl	ja	nein
Cresytin W	ja	nein
Amalgam	ja	nein

Schaubild Nr. 3: Elektronenmikroskopische Beurteilung des Nerven nach 3 bezw. 61 Tagen Lokalisation: Distal der Aufbringungsstelle

4. Diskussion

4.1. Diskussion der Methode

4.1.1. Vorbemerkungen

Auf die toxische Wirkung vo AH 26, Asphaline A, Cresytin W, Calxyl und Amalgam in vitro auf Zellkulturen hat Schmalz 1981 (144) hingewiesen. Auch die toxische Wirkung von Endomethasone wurde in der Literatur beschrieben (101, 110, 111).

Die Implantation der genannten Materialien in lebende Gewebe wie in die Muskulatur von Kaninchen, Ratten und anderen Tieren (6, 14, 48, 49, 60, 65, 83, 110, 116, 117, 119) bewirkt toxische Schädigungen, die histologisch zum Teil als Nekrosen erkennbar sind. Die im Tierexperiment gewonnenen Erkenntnisse lassen sich auf Verhältnisse am Menschen übertragen, wenn man die in der Literatur (64, 78, 100, 112, 145,146) teilweise erwähnten Sensibilitätsstörungen im Bereich des Nervus alveolaris mandibularis nach Kontakt mit Wurzelfüllmaterialien als toxische Schädigungen ansieht.

Es fehlte aber bislang der Beweis dafür, daß die im Tierexperiment zum Beispiel an der Muskulatur festgestellten Schäden analog auch am peripheren Anteil des V. Hirnnerven auftreten. Die von Dinkelacker, Dobler und Moser 1983 (41, 45, 115) durchgeführten Tier-Experimente am N. mandibularis der Ratte dienten dem Ziel, Kausalzusammenhänge zwischen der Toxizität des chemischen Stoffes in Form von Sensibilitätsstörungen und histologischen Schäden nachzuweisen. Die von uns durchgeführten elektronenmikroskopischen Untersuchungen derselben Präparate hatten zur Aufgabe, den jeweiligen Schädigungstyp ultrastrukturell zu ermitteln und zu analysieren, um Rückschlüsse auf das verwendete Material vornehmen zu können. Desweiteren interessierte uns, durch submikroskopische Untersuchung der Präparate eine erweiterte Stellungnahme über den von

Dinkelacker, Dobler und Moser 1983 ausgesprochenen Verdacht auf Regeneratbildung nach 61 Tagen Liegedauer geben zu können.
Die Methodik, welche ausführlich beschrieben wird, da sie zur Beurteilung der elektronenmikroskopischen Befunde von großer Wichtigkeit ist, bezieht sich auf die Wahl des Versuchtieres, die Op-Technik, die Applikation des Medikaments, die Versuchsdauer, die Präparatentnahme und die Aufarbeitung des Materials zur histologischen und elektronenmikroskopischen Untersuchung.

4.1.2. Das Versuchstier

Die Infektionsgefahr bei den verwendeten Sprague-Dawley-Ratten ist gering. Darüber hinaus hat sich gezeigt, daß sie wenig zu Infekten der Mundhöhle und des Pharynx neigen. Besonders Gingivitiden, welche die Versuche am ehesten gefährdet hätten, wurden nicht festgestellt. Auch kamen keine Wundinfektionen vor, obwohl keine antibiotische Allgemeintherapie erfolgte.

Gerade weil die Wundheilung nicht durch Infektionen gestört war, erscheint nach Ansicht von Dinkelacker, Dobler und Moser (1983) die Sprague-Dawley-Ratte als Versuchstier besonders geeignet. Somit ist auch ausgeschlossen, daß die beschriebenen Nervenschäden infektionsbedingt sind.

4.1.3. Operationstechnik

Es wurde zur Freilegung des Nerven und zur Applikation der Medikamente ein Op-Mikroskop verwendet. Die Lagerung der Versuchstiere während der Operation, die Wahl des Narkose-Verfahrens und die Vergrößerung um das 6-fache garantierten die atraumatische Freilegung des Nerven an einer Stelle des Unterkiefers, an der die Außenkortikalis über dem Nerven besonders dünn ist. Auch das Aufbringen von Ledermix-Paste, Dontisolon-Paste, AH 26, Asphaline A, Endomethasone, Calxyl, Cresytin W und Amalgam war bei diesem Verfahren zum einen sehr kontrolliert durchführbar, zum anderen vom operations-

technischen ner atraumatisch, so daß auch von dieser Seite der Methodik keine über die chemisch-toxische Wirkung der Substanzen hinausgehende Schädigung auftrat.

4.1.4. Versuchsdauer

Die Versuchsdauer wurde erst im Laufe der Untersuchungen festgelegt und für die vorliegende Arbeit auf einen postoperativen Zeitraum bestimmt , der zwischen 3 Tagen und 61 Tagen lag, entsprechend den lichtmikroskopischen Befunden. Es bleibt weiteren Versuchen überlassen, den Zeitraum zu verkürzen oder zu verlängern. So können bei längeren Beobachtungszeiträumen in Zukunft auch weitere Aussagen bezüglich einer möglicherweise stattgefundenen Regeneratbildung gemacht werden.

Auch eine Aussage über den Ablauf toxischer Schädigungen in der Frühphase wäre wichtig, weil dieser Fragestellung besondere klinische Relevanz zukommt. Je schneller irreversible Schädigungen auftreten, umso rascher muß die Entfernung des Gewebsgiftes vorgenommen werden.
Ebenso kommt der Dauer einer Nervenfunktionsstörung klinische Bedeutung zu, weil z.B. Narben excidiert und entstandene Nervendefekte durch ein Transplantat überbrückt werden müssen. Trotzdem kann, wie die histologische und ultrastrukturelle Untersuchung zeigt, davon ausgegangen werden, daß in dem von uns beobachteten Zeitraum die wesentlichen toxischen Schädigungen und die entsprechenden darauf folgenden Reaktionen ablaufen.

4.1.5. Präparatentnahme

Sie erfolgte nach der intravitalen Fixierung mit 4%igem, gepuffertem Paraformaldehyd. Dadurch wurden Verzögerungen in der Gewebsfixierung vermieden und die Gefahr der Artefaktbildung gering gehalten. Darüber hinaus fanden sich bei der Auswertung der meisten histologischen Präparate in den interfaszikulären Gefäßen keine Erythrozyten mehr, was für eine gute Fixierung spricht.

Die Nervenentnahme erfolgte in der beschriebenen Weise. Dadurch konnten sowohl der Nervabschnitt am Applikationsort, als auch seine distalen und proximalen Anteile getrennt eingebettet und histologisch und elektonenmikroskopisch ausgewertet werden. Die Einbettung in Araldit^{R}, die Ultradünnschnitt-Technik und die Kontrastierung mit Uranylacetat und mit Bleizitrat sind die heute gebräuchliche Methode zur elektronenmikroskopischen Beurteilung von peripheren Nerven.
Auf diese Weise bleiben alle fraglichen Strukturen, wie z.B. Markscheiden, Schwann `sche Zellen, Phagozyten und Perineurium bestens erhalten und stellen sich in gutem Kontrast dar.
Diese Form der Aufbereitung des Nerven erlaubte uns somit eine Beurteilung des Gewebes an drei Stellen des Präparates und ließ damit auch eine Beobachtung der Schädigung in ihrer räumlichen Ausdehnung zu.

4.2. Diskussion der Ergebnisse

4.2.1. Vorbemerkungen

Zur Darstellung der Toxizität der applizierten Materialien wurde der Versuch einer Klassifizierung durchgeführt. Hierbei soll aufgrund der unterschiedlichen Komponenten der Wurzelkanalfüllmaterialien die Möglichkeit geschaffen werden, das Toxizitätsverhalten differenzierter darzustellen.

Es bietet sich folgende Zuordnung an:

Antibiotika-haltig:	Dontisolon-Paste Ledermix-Paste
Eugenol-haltig:	Endomethasone
Corticoid-haltig:	Dontisolon-Paste Ledermix-Paste Endomethasone
Trypsin-haltig:	Dontisolon-Paste

Paraform(aldehyd)-haltig:	AH 26 Asphaline A Endomethasone
Calziumhydroxyd-haltig:	Calxyl
Quecksilber-haltig:	Amalgam
Thymol-haltig:	Asphaline A
Kampfer-haltig:	Asphaline A
Kresol-haltig:	Cresytin W
Cassiaöl-haltig:	Cresytin W
Epoxybisphenol-haltig:	AH 26
Strontiumcarbonat-haltig:	Calxyl

Ein sicherer Nachweis über die direkte Toxizität der einzelnen Wirkstoffe kann in dieser Studie nicht erbracht werden. Aufgrund vergleichender Untersuchungen und Hinweisen aus der Literatur ist es aber möglich, Schlüsse auf die Gewebsverträglichkeit von bestimmten Wirkstoffen zu ziehen (144). Inwieweit die Kombination von Wirkstoffen die Toxizität beeinflußt, geht aus diesen Untersuchungen nicht hervor. Es ist durchaus vorstellbar, daß sich aus zwei oder mehr Wirkstoffen Metaboliten bilden, die ihrerseits ein anderes toxisches Verhalten aufweisen, als die Summe der Komponenten.

Als negative Referenz diente ein Leerversuch, der für alle Liegezeiten durchgeführt wurde und bei elektronenmikroskopischer Betrachtung keinen Anhalt auf ein pathologisches Geschehen ergab (Abb. 7).

4.2.2. Charakteristika der Wirkstoffe

Zwei der verwendeten Medikamente sind Antibiotika-haltig. Antibiotika werden zur Behandlung bakterieller Infektionen eingesetzt. Bekannte Nebenwirkungen sind Sensibilisierung und Ausbildung von Erregerresistenzen, doch sind auch schwere neurotoxische Schädigungen (Streptomycin) bekannt.

Die Antibiotika-haltige Ledermix-Paste zeigte im Tierversuch in der elektronenmikroskopischen Auswertung einen sehr geringen Schädigungsgrad, während Dontisolon-Paste zu einer schwereren Schädigung führte, erkennbar an einer ersten primären Demyelinisierung. Dies ist wahrscheinlich nicht auf das Antibiotikum, sondern auf den Trypsinanteil der Dontisolon-Paste zurückzuführen.

Drei der untersuchten Präparate enthalten Cortison. Corticoide sind bekanntlich Entzündungshemmer, haben jedoch auch unerwünschte Nebenwirkungen wie Verzögerung der Wundheilung, Herabsetzung der Abwehrfunktion und Störung der mesenchymalen Reaktion. Reaktionen haben sich bei allen drei Präparaten gezeigt, bei Ledermix-Paste jedoch lediglich in sehr schwacher Form.

Da den übrigen Materialien noch weitere Wirkstoffe zugesetzt sind, die möglicherweise toxisch sind, läßt das Ergebnis den Schluß zu, daß dem Cortison diesbezüglich eine eher unwesentliche Rolle zukommt. Demgegenüber wird vermutet, daß die Corticoide aufgrund ihrer Wundheilungsverzögerung die Gewebsverträglichkeit herabsetzen (28, 101).

Zu den Eugenol-haltigen Präparaten gehört das Wurzelkanalfüllmaterial Endomethasone. Der Wirkstoff ist auf Zinkoxid-Eugenol-Basis aufgebaut. Endomethasone erwies sich als sehr neurotoxisch. Auch auf Zellkulturen hat sich Zinkoxid-Eugenol bei direktem Zellkontakt als stark toxisch erwiesen. Für diese Wirkung wird Eugenol als Ursache angenommen (144).

Die drei Wurzelkanalfüllmaterialien, die Paraformaldehyd enthalten, zeigen im Tierversuch auffällig schwere Nervenschädigungen, mit totalem Untergang der Nervenfaser. Es wurden mehrere Fälle von Mandibularisparästhesien beobachtet, nachdem Wurzelkanäle mit Endomethasone und dem ebenfalls Paraformaldehyd enthaltenden N2-Normal (134) überstopft worden waren(78, 100, 112, 146, 64). Höchstwahrscheinlich sei die Nervenschädigung auf die Paraformaldehydkomponente des Materials zurückzuführen(14, 68).

Da die weiteren Wirkstoffgruppen nur noch in je einem Präparat vorkommen, werden sie im Zusammenhang mit der Diskussion der Einzelergebnisse besprochen.

4.2.3. Diskussion der Einzelergebnisse

4.2.3.1. Ledermix-Paste

Ledermix erwies sich als das verträglichste Material. Bei einer Liegezeit von 3 Tagen ist insgesamt eine sehr geringe Gewebereaktion zu verzeichnen. Insbesondere ist ein deutlich verbreitertes endoplasmatisches Retikulum mit Vermehrung freier Ribosomen und Polysomen zu beobachten. Auffällig ist insgesamt die reaktive Cytoplasmahypertrophie der Schwann`schen Zellen. Nach 61 Tagen Liegezeit zeigte sich im ultrastrukturellen Bild des Nervenfaserquerschnittes eine regelrechte Anordnung der Axone und Markscheiden, ohne jeglichen Anhalt von pathologischen Geschehnissen. Nur die vereinzelt auftretenden relativ dünnen Markscheiden lenken den Verdacht in Richtung einer eventuell stattgefundenen Regeneratbildung. Dies jedoch würde vorraussetzen, daß ein Nervenfaseruntergang sattfand, was aber nicht beobachtet wurde. Da Ledermix-Paste keinen bekannten gewebesschädigenden Wirkstoff wie Eugenol, Paraformaldehyd oder Quecksilber enthält, war allein von der Zusammensetzung her keine Toxizität zu erwarten. Vergleiche mit anderen Studien waren nicht möglich, da keine Literatur über Ledermix-Paste zugänglich war.

4.2.3.2. Dontisolon-Paste

Nach 3-tägiger Applikation von Dontisolon-Paste zeigte sich hier im ultrastrukturellen Bild eine Zunahme der Zellorganellen, insbesondere der π-Granula und des endoplasmatischen Retikulums der Scwann`schen Zellen. Dies ist ein erster Schritt im Sinne einer reaktiven Veränderung, bedingt durch eine lokale Toxinwirkung. Zudem findet an den Myelinscheiden eine erste Aufsplitterung der

Lamellen statt. Dieser Vorgang ist als beginnende Degeneration (Initialstadium) zu verstehen. Dontisolon-Paste ist somit als neurotoxischer zu bewerten als Ledermix-Paste. Diese erhöhte Toxizität ist möglicherweise auf den Trypsingehalt zurückzuführen.
Nach einer Liegezeit von 61 Tagen ließ das Präparat keine pathologischen Veränderungen mehr erkennen. Die sichtbaren intramyelinären Spaltraumbildungen stellen einen Einbettungsartefakt dar. Ebenfalls imponiert der Artefakt eines zu großen Faserzwischenraumes. Dieser, sowie die etwas bizarr geformten Myelinscheiden, haben ihre Ursache in der mechanischen Entnahme des Nerven bei der Präparation. Ob es sich bei diesem Nervenfaserquerschnitt um eine Regeneratbildung handelt, läßt sich nicht beurteilen, da die Artefaktbildung dominiert. Vergleiche mit anderen Untersuchungen waren nicht möglich, da darüber keine Studien vorlagen.

4.2.3.3. AH 26

Bei dem von Schroeder entwickelten Wurzelkanalfüllmaterial AH 26 zeigte sich nach 3-tägiger Applikation im proximalen Nervenanteil eine eindruckvolle Aktivierung der Schwann`schen Zellen. Die Aktivierung wirkte sich hier vor allem in der deutlich sichtbaren Ausbreitung des Neurolemms und in der enormen Zunahme und Ausweitung der Zisternen des endoplasmatischen Retikulums aus. Auch fanden an den Markscheiden bereits erste Abbauvorgänge statt. Die Aktivierung legt den Schluß nahe, daß es sich hierbei um eine dosisabhängige Reaktion der Zellen auf eine unterschwellige Konzentration des Medikamentes handelt. Die Aufsplitterung der Myelinscheiden sind als erstes Zeichen einer Degenerationserscheinung zu werten.
Da diese Vorgänge im proximalen Nervenanteil zu beobachten waren, deutet dies darauf hin, daß ausgehend vom Applikationsort eine Ausbreitung der Noxe entlang des Mandibularkanales stattgefunden hat.
Bei der Betrachtung des ultrastrukturellen Bildes nach 3-

tägiger Liegedauer an der Aufbringungsstelle zeigte sich zum einen ein vollständig geschädigtes Nervenfasergebiet, ein Übergangsgebiet von geschädigten und ungeschädigten Nervenfasern und ein weitgehend ungeschädigtes Faserbild. Dieser Zoneneffekt resultiert offensichtlich daher, daß hier das toxische Material nur teilweise durch das Nervenfaserbündel hindurchdiffundiert ist. Im distalen Nervenanteil nach 3-tägiger Applikationsdauer fand man nicht die zu erwartende sekundäre Waller`sche Faserdegeneration, bei der das Axon in charakteristischer Weise verändert ist, sondern eine primäre Schädigung der Markscheide. Dies legt auch hier den Schluß nahe, daß eventuell durch Diffusion der Noxe eine primäre Schädigung auch an diesem distalen Nervenanteil stattgefunden hat.

Bei 14-tägiger Liegedauer fand sich vor allem im proximalen Nervenanteil eine verhältnismäßig große Zahl von Schmitt-Lantermann`schen Einkerbungen. Da diese bei Regeneraten gehäuft vorkommem, läßt sich vielleicht ein Verdacht in Richtung eines stattgefundenen Regenerationsprozesses lenken. Da bei der Applikation des breiförmigen AH 26 offensichtlich sowohl proximal als auch distal eine Diffusion des Medikamentes stattgefunden hat, ist es durchaus denkbar, daß proximal der Schädigungsstelle Regenerate auftreten. Allerdings erscheinen die Markscheiden für Regenerate etwas zu dick.
Am Applikationsort zeigten sich Nervenfaserstrukturen, die offensichtlich nicht von der Schädigung erreicht wurden, oder aber bereits Regenerationsprozesse durchgemacht haben. Es wäre auch hier eine segmentale Demyelinisierung denkbar, da teilweise doch relativ große Axone von verhältnismäßig dünnen Markscheiden umgeben sind.

Nach 61-tägiger Liegezeit zeigte sich insgesamt ein ruhiges Faserbild mit mehreren Clustern. Nach dem vorausgegangenen Bild mit teilweise massiver Nervenfaserschädigung, läßt dies des Schluß zu, es handle sich nach 61 Tagen um eine vollständige Regeneration des Nervus alveolaris mandibularis.

Die von den anderen Autoren erhobenen Befunde über die Gewebeverträglichkeit von AH 26 entsprechen somit den unsrigen (46, 60, 83, 84, 107, 108, 116, 120, 147, 149).

Untersuchungen, die sich mit der Reaktion von AH 26 auf Weich- und Knochengewebe befaßten, ergaben, daß bei kürzerer Liegedauer des Werkstoffes milde bis mittlere Gewebsreaktionen auftraten, die bei längerem Verbleiben des Implantats geringer wurden und nach längstens sechs Monaten histologisch nicht mehr nachweisbar waren. Auch die röntgenologisch und bioptisch, an mit AH 26 behandelten Patienten, gewonnenen Befunde ergaben bereits nach drei Monaten keine klinischen und histologischen Hinweise auf eine persistierende Entzündung des umgebenden Gewebes.

Das von Dobler (45) verwendete Material wurde nach Herstellerangaben im Verhältnis 1 : 1 angerührt, so daß die aufgetretenen Schädigungen nicht durch einen zu hohen Pulveranteil der Paste erklärt werden könnten.
Sehr viel wahrscheinlicher ist jedoch die Annahme, daß die entzündlichen Reaktionen durch das von der AH 26 Paste abgegebene Formaldehyd bedingt sind.(120)

4.2.3.4. Asphaline A

Nach 3-tägiger Liegedauer von Asphaline A zeigte sich am Applikationsort im ultrastrukturellen Bild eine massive Faserschädigung. So fand sich sowohl ein immenser Myelinzerfall mit sekundärer Axonschädigung, als auch zahlreiche Myelinphagozytose. Die Myelinschädigung erfolgte über eine Vakuolenbildung der Markscheide durch intramyelinäre Ödeme. Der distale Nervenanteil wies die zu erwartende sekundäre Waller`sche Faserdegeneration auf.
Nach 61-tägiger Liegezeit fand sich im gesamten Nervenfaserquerschnitt kein Anhalt auf ein pathologisches Geschehen. Die zu beobachtenden Fasern mit relativ zu dünnen Markscheiden erwecken den Eindruck man habe Regenerate vor sich, besonders im Hinblick auf die nach 3 Tagen auftretenden massiven Schädigungen.

Asphaline A stellt pharmakologisch ein Gemisch aus Thymol, Paraform, Kampfer und Zinkoxid dar, wobei Zinkoxid mit 22% den größten Anteil der verwendeten Substanzen stellt. Cook (37) zeigt, daß Zinkoxid-Eugenol-Zemente zu entzündlichen Veränderungen im Gewebe führen. Auch andere Untersuchungen mit Zinkoxid als Reinsubstanz, oder mit Zinkoxid-Eugenol (76, 144, 98) brachten ähnliche Ergebnisse.

4.2.3.5. Endomethasone

Nach 3-tägiger Liegedauer von Endomethasone fand sich bereits am Applikationsort ein deutlicher primärer Markscheidenzerfall. Vereinzelt traten auch primäre Axonschädigungen auf, ebenso waren reaktive Veränderungen an den Schwann'schen Zellen zu erkennen. Dasselbe Bild zeigte sich nach 3-tägiger Liegezeit am distalen Nervenanteil. Da nicht die zu erwartende Waller'sche Faserdegeneration auftrat, sonderneine primäre Nervenfaserschädigung, liegt der Verdacht nahe, daß entweder eine Diffusion des Medikamentes stattgefunden hat, oder daß beim Applikationsvorgang oder bei der Präparation ein Fehler unterlaufen ist (115). Insgesamt zeigte also Endomethasone nach 3 Tagen Liegezeit im ultrastrukturellen Bild eine massive Faserschädigung. Ungeschädigte Nervenfasern waren keine mehr zu erkennen.
Nach 61-tägiger Liegedauer fand sich ein vollkommen wiederhergestellter Nerv, ohne irgendwelche Anzeichen der vorausgegangenen schweren Schädigung. Lediglich die in Teilbereichen erkennbare relativ dünne Markscheide spricht für eine stattgefundene Regeneration und Remyelinisation.
Dises Ergebnis stimmt mit mit früheren Untersuchungen insofern überein, als bei Endomethasone mit zunehmender Alterungszeit ein deutlicher Trend zur Abnahme der Toxizität festzustellen ist (110, 111).

In einer Untersuchung der Gewebeverträglichkeit von Endomethasone mit der intramuskulären Implantationsmethode am Kaninchen zeigten sich jeweils starke Nekrosen und

ausgeprägte Entzündungserscheinungen (101). Als Ursache für diese Reaktion könnten sowohl die nekrotisierenden Eigenschaften des Paraformaldehyds, als auch die Wirkung der Cortikoidzusätze in Frage kommen, wobei letztere bekanntlich die Wundheilung erheblich verzögern. Ander Untersuchungen machen für die toxische Wirkung von Endomethasone das Paraformaldehyd verantwortlich (28).

In einer klinischen Fallstudie wird berichtet, daß nach einer Wurzelkanalbehandlung eines Unterkiefermolaren das Material Endomethasone infolge Überstopfung in den Mandibularkanal gelangte und eine sofortige totale Parästhesie zur Folge hatte. Dies könnte ein Hinweis auf eine initiale Toxizität sein (78). 12 Wochen nach Fremdkörperentfernung und Extraktion des Molaren war die Sensibilität bei allen Zähnen bis auf Zahn 45 wieder vorhanden. Damit ist die Möglichkeit einer Regeneration gegeben.

4.2.3.6. Calxyl

Nach dreitägiger Liegezeit von Calxyl, bestehend aus 93% Calciumhydroxid und 7% Strontiumcarbonat in Blutsalzlösung, fand sich am Applikationsort ein Hinweis auf eine besonders heftige Schädigung, da einige Fasern schon vollständig nicht mehr vorhanden waren. Dies deutet auf einen raschen Zerfall hin, ein Beispiel für die sogenannte Alles-oder-Nichts-Reaktion, da wieder andere Fasern völlig intakt sind. Wieder andere Fasern zeigten reaktiv verändertes Cytoplasma der Schwann`schen Zellen. Auch hier zeigten die Nervenfasern im distalen Abschnitt schwerste Schäden anstatt der zu erwarteten Waller`schen Faserdegeneration, so daß anzunehmen ist, daß das Material bis in diesen Abschnitt vorgedrungen war.
In Abbildung 42 erkennt man als Schnittartefakt die sogenannten Chatters, welche durch geringfügige Abweichungen in der Schnittdicke charakterisiert sind, die senkrecht zur Schnittrichtung verlaufen. Chatters werden durch hochfrequente Vibrationen zwischen Messer und Block hervorgerufen.

Nach 61-tägiger Liegedauer fand sich wieder ein vollkommen ungeschädigtes Nervenfaserbündel, bei dem lediglich die Markscheiden insgesamt etwas zu dünn erscheinen. Auch hier drängt sich nach der vorhergehenden massiven Schädigung der Verdacht einer Regeneration und Remyelinisierung auf. Auch die verbreiterten Räume zwischen den Markscheiden deuten auf eine abgelaufene Regeneration hin. Die in der Literatur mitgeteilten Ergebnisse über die Toxizität von Calxyl (151) entsprechen den von uns gemachten.

4.2.3.7. Cresytin W

Nach 3- tägiger Liegedauer von Cresytin W zeigte sich am Applikationsort im ultrastrukturellen Bild eine massive Faserschädigung, vergleichbar der nach Aufbringung von Asphaline A. So fand sich sowohl eine massive reaktive Veränderung der Schwann`schen Zellen, eine primäre Myelindegeneration, eine sekundäre Axondegeneration als auch vereinzelte primäre Axondegenerationen.
Nach 61-tägiger Liegezeit waren keine pathologischen Veränderungen mehr auffällig. Vereinzelt sind Cluster von Axonen mit relativ zu dünner Markscheide sichtbar, die Regenerate vermuten lassen. Powell (131), der Cresytin W in sehr geringer Dosis Ratten implantierte, beschreibt die nach 3, 14 und 30 Tagen vorherrschenden Reaktionen als mild, die nach 7 Tagen jedoch als sehr schwer. Cresytin W zeigt auf Zellkulturen keine Toxizität (144). Somit entsprechen unsere Befunde nur einem Teil der in der Literatur veröffentlichten Ergebnisse.

4.2.3.8. Amalgam

Nach 3-tägiger Liegedauer von Silber-Amalgam fanden sich gehäuft eigenartige Myelinverformungen. Es könnte sich dabei entweder um iatrogene Druckveränderungen oder um ein pathologisches Geschehen handeln. Die Tatsache, daß zwischen den Fasern zahlreiche intakte Nervenfasern vor-

kommen, spricht jedoch gegen einen Artefakt. Im ultrastrukturellen Bild, distal der Aufbringungsstelle, waren primäre Axonschädigungen auszumachen, die Markscheide war in diesem Stadium zumeist erhalten. In der Detailaufnahme waren eindrucksvolle reaktive Axonveränderungen zu erkennen.
Nach 61-tägiger Liegezeit bestand kein Hinweis auf ein pathologisches Geschehen, wenngleich eine Beurteilung erschwert war, durch den vorhandenen Fixierungs- und/oder Entnahmeartefakt mit Nervenfaserquerschnittsschrumpfung. Da jedoch die zuvor aufgetretenen Myelinverformungen und primären Axondegenerationen nicht mehr erkennbar waren, wird auch hier der Verdacht laut, es habe eine Nervenfaserregeneration stattgefunden.
Eine Literaturübersicht (144) zeigt, daß es sich beim Amalgam um einen zahnärztlichen Werkstoff handelt, der entzündliche Veränderungen des umgebenden Gewebes hervorrufen kann.

Zusammenfassend läßt sich aufgrund der beobachteten Schädigungstypen eine Reihenfolge der der Medikamente nach aufsteigender Neurotoxizität festlegen. Am gewebsverträglichsten ist demnach Ledermix-Paste, gefolgt von Dontisolon-Paste. Sehr toxisch wirkten AH 26, Asphaline A, Endomethasone, Calxyl und Cresytin W. Amalgam dagegen zeigte nur eine selektive Veränderung.

Für regenerative Prozesse gibt es bei allen untersuchten Präparaten deutliche Hinweise. Auch Riegger (134) hat in seiner Studie Anzeichen für Regenerationsvorgänge erbracht, da auch die von ihm untersuchten Wurzelkanalfüllmaterialien nach 3 Tagen Liegedauer zum Teil erhebliche Faserschädigungen zeitigten, nach 61 Tagen jedoch kein pathologischer Befund zu erheben war.
Die neu aussprossenden Axone, die vor allem durch sehr dünne Myelinscheiden charakterisiert sind, können zu einer Funktionswiederherstellung führen, wenn sie vom proximalen Ende des Nervs das geschädigte Gebiet, das sich klinisch oft als Narbe darstellt, überwinden können. Eine Aussage

über die Funktionswiederherstellung ist in dieser Arbeit jedoch nicht möglich.
Klarheit über die Frage ob es sich tatsächlich um Regenerate handelt, kann letztendlich nur eine neuerliche Studie erbringen, die sich speziell mit dieser Fragestellung beschäftigt.

Für die Klinik ist zu folgern, daß zum einen solche Medikamente für Wurzelkanalfüllungen Verwendung finden sollten, die hier im Experiment nur eine geringe Toxizität aufgewiesen haben, zu anderen, daß beim Übertritt dieser Medikamente aus dem Wurzelkanal in den Kanal des Nervus alveolaris mandibularis baldmöglischt der Versuch unternommen werden sollte, das Medikament wieder zu entfernen. Eine Aussage über den Funktionszustand in diesem Stadium ist jedoch im Rahmen dieser Untersuchung nicht möglich.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde eine elektronenmikroskopische Untersuchung des Nervus alveolaris mandibularis der Ratte nach medikamentöser Schädigung mit Ledermix-Paste, Dontisolon-Paste, AH 26, Asphaline A, Endomethasone, Calxyl, Cresytin W und Amalgam vorgenommen.

Die Studie stützt sich auf die von Dobler und Moser 1983 (45,115) durchgeführten Tierexperimente, sowie auf deren lichtmikroskopische Untersuchungen.

Es erwies sich Ledermix-Paste als das mit Abstand am wenigsten neurotoxische Material, gefolgt von Dontisolon-Paste. Zu schweren Nervenschädigungen führten AH 26, Asphaline A, Endomethasone, Calxyl und Cresytin W. Amalgam dagegen zeigte nur selektive Faserveränderungen.

Nach der jeweils längsten Liegedauer von 61 Tagen waren unisono völlig intakte Nervenfaserbündel zu beobachten, was als auf ein Hinweis auf eine stattgefundene Regeneration gewertet werden kann.

Das Ausmaß der Schädigungen ergibt Hinweise auf den klinischen Einsatz der Wurzelkanalfüllmaterialien und auf das notwendige therapeutische Vorgehen bei Überstopfung der genannten Materialien in den Kanal des Nervus alveolaris inferior beim Menschen.

6. Literaturverzeichnis

1. ABERCROMBIE, M. and JOHNSON, M.L.: The outwandering of cells in tissue culture of nerves undergoing Wallerian degeneration. Journal of Experimental Biology 19, 266 (1942)

2. ABERCROMBIE, M. and JOHNSON, M.L.: Quantitative histology of Wallerian degeneration.I: Nuclear population in rabbit sciatic nerve. J. Anat. (Lond.) 80, 37 (1946)

3. ALLT, G.: Repair of segmental demyelination in peripheral nerves: an electron microscope study. Brain, 92, 639 (1969)

4. ALLT, G.: An ultrastructural analysis of remyelination following segmental demyelination. Acta neuropathologica, (Berlin), 22, 333 (1972)

5. ALLT, G., CAVANAGH, J.B.: Ultrastructural changes in the region of the node of Ranvier in the cat caused by diphtheria toxin. Brain 92, 459 (1969)

6. ANASTASIADIS, L. and HOWDEN, G.F.: Tissue reaction of endodontic materials using the rabbit ear chamber. J.dent.Res. 56, Suppl.D 119, Abstr. No 121 (1977)

7. ARVIDSON, B.: Regional differences in severity of cadmium-induced lesions in peripheral nervous system in mice. Acta neuropath. (Berlin) 49, 213 (1980)

8. ASAI, Y., NAKAMURA, T., YAMAGISHI, A., KINOSHITA, M., and SEKINE, N.: Clinico-pathological observations on paramonochlorphenol compounds in endodontics. Bull. Tokyo Dent. Coll. 14, 35 (1973)

9. ASHBURY, A.K.: The histogenesis of phagocytes during Wallerian degeneration. Proceedings VI International Congress Neuropathology. Paris, Mason, 666 (1970)

10. ASHBURY, A.K., JOHNSON, P.C.: Pathology of peripheral nerve. Volume 9 in the series. W.B.Sounders Company, Philadelphia, London, Toronto (1978)

11. BABEL, J., BISCHOFF, A. and SPOENDLIN, H.: Ultrastructure of the Peripheral Nervous System and Sense Organs. Churchill: London. (1970)

12. BALLIN, R.H.M. and THOMAS, P.K.: Electron microscope observations on nodal changes during Wallerian degeneration. Journal of Anatomy, 104, 184 (1969a)

13. BALLIN, R.H.M. and THOMAS, P.K.: Changes at the nodes of Ranvier during Wallerian degeneration: an electron microscope study. Acta neuropathologica, (Berlin), 14, 237 (1969b)

14. BARKER, B.C.W. and LOCKETT, B.C.: Periapical response to N2 and other paraformaldehyde compounds confined within or extruded beyound the apices of dog root canals. Dent.Practit.Dent.Rec. 22, 370 (1972)

15. BARTON, A.A.: An electron microscope study of degeneration and regeneration of nerve. Brain 85, 799 (1962)

16. BERNER, A., TORVIK, A. and STENWIG, A.E.: Origin of macrophages in traumatic lesions and Wallerian degeneration in peripheral nerves. Acta neuropathologica, (Berlin), 25, 228 (1973)

17. BERTHOLD, C.-H.: Morphology of normal peripheral axons. S.G. Waxman (Ed.) Physiology and Pathobiology of Axons, Raven Press, New York, 3, (1978)

18. BISCHOFF, A.: The ultrastructure of tri-ortho-cresylphosphate poisoning. I. Studies on myelin and axonal alterations in the sciatic nerve. Acta neuropathol. 9, 158 (1967)

19. BLOCK, R.M., BUSHELL, A., RODIRIGUES, H. and LANGELAND, K.: A histopathologic, histobacteriologic and radiographic study of periapical endodontic surgical specimen. J.dent.Res. 55, B 129 (1976)

20. BLÜMCKE, S.: Zur Morphologie und Genese des Leitgewebes peripherer Nervenregenerate. II. Elektronenoptische Befunde aus der Nervennarbe. Zbl. allg. Path. (1962)

21. BLÜMCKE, S.: Elektronenoptische Untersuchungen an Schwannschen Zellen während der initialen Degeneration und frühen Regeneration. Zeitschrift für mikroskop. anat. Forschung (1963)

22. BLÜMCKE, S., NIEDORF, N.R.: Elektronenoptische Untersuchungen an Wachstumsendkolben regenerierender peripherer Nervenfasern. Virchous Arch 340, 93 (1965)

23. BLÜMCKE, S., NIEDORF, N.R.: Electron microscope studies of Schwann cells during the Wallerian degeneration with special reference to cytoplasmic filaments. Acta Neuropathol. 6, 46 (1966)

24. BOYD, I.A. and DAVEY, M.R.: Composition of Peripheral Nerves. Livingstone: Edinburgh (1968)

25. BRADLEY, W.G.: Disorders of peripheral nerves. Blackwell Scientific Publications; Oxford,London, Edinburgh, Melbourne (1974) Chapter 2: Structure and Function of the Nerve.

26. BRADLEY, W.G.: Disorders of peripheral nerves. Chapter 4: Investigations of Patients with peripheral Nerve Disease.

27. BRADLEY, W.G.: Disorders of peripheral nerves. Chapter 5: Basic Disease Process in the peripheral Nerve; Blckwell Scientific Publications (1974)

28. BRANZI, A., BOREA, G. und CUPPIN, A.: Biologische Kontrollen von Materialien zur Wurzelkanalfüllung. Zahnärztliche Praxis 19, 219 (1968)

29. BRAY, G.M., PEYRONNARD J.M. and AGUAYO A.J.: Reactions of unmyelinated nerve fibers to injury - an ultrastructural stuy. Brain Res. 42, 297, (1972)

30. BUNDESVERBAND DER DEUTSCHEN ZAHNÄRZTE e.V., KASSENZAHNÄRZTLICHE BUNDESVEREINIGUNG: Informationen über zahnärztliche Arzneimittel. 6.Auflage Bundesverband der deutschen Zahnärzte e.V. und der Kassenzahnärztlichen Bundesvereinigung Hrsg. Köln (1978)

31. CAJAL, S.R.: Degeneration and Regeneration of the Nervous System. London Oxford University Press, (1928)

32. CAUSEY, G.: The cell of Schwann. Ch.VII. E. & S. Livingstone Ltd: Edinburgh and London (1960)

33. CAUSEY, G., BARTON, A.A.: An electron microscopic examination of degenerating and regenerating peripheral nerve. In Cytology of Nervous Tissue, Proceedings of the Anatomical Society of Great Britain and Ireland. pp.75 (1961)

34. CAVANAGH, J.B.: Patterns of change in peripheral nerves produced by isoniazid intoxication in rats. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 30, 26 (1967)

35. CAVANAGH, J.B.: Peripheral neuropathy caused by chemical agents. CRC Crit. Rev. Toxicol., 2, 365 (1973)

36. COHEN, M.M.: Toxic neuropathy. In Handbook of Clinical Neurology, Vol. 7, ed. Vinken P.J. and Bruyn G.W., pp. 510 North-Holland, Amsterdam (1970)

37. COOK, D.J. and TAYLOR, P.P.: Tissue reaction to improved zinc-oxide-eugenol cements. J.Dent.Child. 40, 199 (1973)

38. DAVISON, A.N. and PETERS, A.: Myelination pp.138, C.C. Thomas: Springfield, Illinois (1970)

39. DENNY-BROWN, D.: Importance of neural fibroblasts in the regeneration of nerve. Arch. Neurol. 55, 171 (1946)

40. DESAI, B.D., SINGH, I. and TALIM, S.: Inflammatory potential of root canal sterilizing agents. J.Indian dent. Ass. 45, 71 (1973)

41. DINKELACKER, S.: Medikamentöse Schädigung am Nervus alveolaris mandibularis der Ratte durch Ch-K-M, Chloropercha, Guttapercha, Jodoform-Paste, Kloroperka. Dissertation Tübingen (1983)

42. DOMONKOS, J.: Lipid metabolism in Wallerian degeneration In Handbook of Neurochemistry, (ed.) Lajtha, A. Vol. 7, pp. 93, Plenum Press: New York and London (1972)

43. DYCK, P.J. and HOPKINS, A.P.: Electron microscopic observations on degeneration and regeneration of unmyelinated nerves. Brain 95, 223 (1972)

44. DYCK, P.J., THOMAS, P.K. and LAMBERT, E.H.: Peripheral Neuropathy. W.B. Saunders: Philadelphia (1975)

45. DOBLER, U.: Schädigung des Nervus mandibularis der Ratte durch AH 26, Amalgam, Asphaline A, Calxyl und Cresytin W. Dissertation Tübingen (1983)

46. EGLI, H.: Wurzelfüllmaterial AH 26, Röntgenologische Nachkontrollen über Erfolge und Mißerfolge. Dtsch. zahnärztll. Z. 18, 407 (1963)

47. EHMER, D. und WELKER, D.: Untersuchungen der abdichtenden bakteriostatischen, hämolytischen und eiweißfällenden Eigenschaften von Phosphat-, EBA- und Polyacrylatzementen. Dtsch. Stomat. 22, 328 (1972)

48. ELEY, B.M., GARRETT, J.R. and HARRISON, J.D.: Analytical ultrastructural studies on implanted dental amalgam in guinea-pigs. Histochem.J. 8, 647 (1976)

49. ERAUSQUIN, J. and MURUZABAL, M.: Tissue reaction to root canal cements in the rat molar. Oral Surg. 26, 360 (1968)

50. ERAUSQUIN, J. and MURUZABAL, M.: Tissue reaction to root canal fillings with absorbable pastes. Oral Surg. 28, 567 (1969)

51. EVANS, D.H.L. and MURRAY, J.G.: Regeneration of nonmedullated nerve fibres. Journal of Anatomy 88, 465 (1954)

52. FELDMAN, G. and NYBORG, H.: Tissue reaction to root filling materials. Odont.Revy 13, 1 (1962)

53. FORMAN, G.H. and ROOD, J.P.: Successful retrieval of endodontic material from the inferior alveolar nerve. J. Dent. 5, 47 (1977)

54. FRIED, K. and HILDEBRAND, C.: Axon number and size distribution in the developing feline inferior alveolar nerve. J.neurol.Sci.

55. FRIED, K. and HILDEBRAND, C. and ERDÉLYI, G.: Myelin sheath thickness and internodal length of nerve fibres in the developing feline inferior alveolar nerve. J.neurol.Sci.

56. FRIED, K. and ERDÉLYI, G.: Inferior alveolar nerve regeneration and incisor pulpal reinervation following intramandibular neurotomy in the cat. Brain Res. 244, 259 (1982)

57. FRIEDE, R.L.: Axon swellings produced in vivo in isolated segments of nerves. Acta Neuropathol. 3, 229 (1964)

58. FRIEDE, R.L. and MARTINEZ, A.J.: Analysis of axon-sheath relations during early Wallerian degeneration. Brain Research, 19, 199 (1970)

59. FRIEND, L.A. and BROWNE, R.M.: Tissue reactions to some root filling materials. Brit.dent.J. 125, 291 (1968)

6o. FRIEND, L.A. and BROWNE, R.M.: Tissue reactions to some root filling materials implanted in the bone of rabbits. Arch.oral Biol. 14, 629 (1969)

61. GLAUERT, A.M.: Practical Methods in Electron Microskopy. Vol. 3, North-Holland Publishing Company, Amsterdam (1974)

62. GLIMSTEDT, G. and WOHLFAHRT, G.: Electron microscopic observations on Wallerian degeneration in peripheral nerves. Acta Morph. Neerl.-Scand. 3, 135 (1960a)

63. GLIMSTEDT, G. and WOHLFAHRT, G.: Electron microscopic studies on peripheral nerve regeneration. Lunds Univers. Arsskrift N.F. 56, 1 (1960b)

64. GROSSMAN, L.I., TATOIAN, J.: Paresthesia from N2. Report of case. Oral Surg. 46, 700 (1978)

65. GUTTUSO, J.: Histopathologic study of rat connective tissue responses to endodontic materials. Oral Surg. 16, 713 (1963)

66. HAFTEK, J. and THOMAS, P.K.: Electron microscope observations on the effects of localized crush injuries on the connective tissues of peripheral nerve. Journal of Anatomy 103, 233 (1968)

67. HALL, S.M. and WILLIAMS, P.L.: Studies on the incisures of Schmidt and Lanterman. Journal of Cell Science 6, 767 (1970)

68. HARRISON, J.W. and MADINIA, J.V.: The toxicity of parachlorphenol. J. Oral Surg. 32, 90 (1971)

69. HESS, A. and LANSING, A.J.: The fine structure of peripheral nerve fibres. Anatomical Record 117, 175 (1953)

70. HÖNJIN, R., NAKAMURA, T. and IMURA, M.: Electron microscopy of peripheral nerve fibres. III On the axoplasmic changes during Wallerian degeneration. Okajimas Folia Anatomica Japonica 33, 131 (1959)

71. HOLTZMAN, E. NOVIKOFF, A.B.: Lysosomes in the rat sciatic nerve following crush. J.Cell Biol. 27, 651 (1965)

72. HORCH, K.W. and LISNEY, S.J.W.: On the number and nature of regenerating myelinated axons after lesions of cutaneous nerves in the cat. J. Physiol. (Lond.) 313, 275 (1981)

73. HUECK, W.: Morphologische Pathologie. Georg Thieme Verlag, Leibzig (1948)

74. INADA, H., NAGAI, M. and SHIBATA, K.: Tissue irritability and cytotoxic action of antiseptic chemicals for infected root-canal. J.Med.Soc. Tokyo Univ. 6, 24 (1959)

75. INGLE, J.I. and BEVERIDGE, E.E.: Endodontics. 2.Aufl., Lea & Febiger Philadelphia p. 226 (1976)

76. JAMES, V.E. and DIEFENBACH, G.B.: Prevention of histopathologic changes in young dog`s teeth by the use of zinc oxide and Eugenol. J.Amer.dent.Ass. 29, 583 (1942)

77. JOSEPH, J.: Further studies in changes of nuclear population in degenerating non-myelinated and finely myelinated nerves. Acta anatomica, 9, 279 (1950)

78. KAUFMAN, A.Y., ROSENBERG, L.: Paresthesia caused by Endomethasone. J.Endodont. 6, 529 (1980)

79. KAWAHARA, H., NAKAMURA, M., JAMAGAMI, A. and NAKANISHI, T.: Cellular responses to dental amalgam in vitro. J. dent. Res. 54, 394 (1975)

80. KELLNER, G. und KERESZTESI, K.: Die Wirkung metallischer Wurzelfüllmaterialien auf Zellkulturen. Dtsch. zahnärztl. Z. 20, 978 (1965)

81. KIMBAROVSKAYA, E.M.: Changes in peripheral nerve fibres resulting from stretching. Dissertation, Dnepropetrovsk (1953)

82. KLAIBER, B., MITTERMAYER, CH., KADEN, P., SCHWECHTEN, J.: Toxizitätsbestimmung von Wurzelfüllmaterialien und deren einzelnen Komponenten in der Zellkultur. Dtsch. zahnärztl. Z. 36, 212 (1981)

83. KLUCZKA, J. und ROZEIK, F.: Vergleichende Untersuchungen über die Gewebsverträglichkeit von AH 26, Diaket und Palavit im Tierexperiment. Zahnärztl. Welt 63, 455 (1962)

84. KNOLLE, G.: Verwendung von Epoxydharzen in der Zahnheilkunde und die Gewebeverträglichkeit von AH 26. Dtsch. zahnärztl. Z. 14, 1520 (1959)

85. KRÜCKE, W.: Die Erkrankungen der peripheren Nerven; in Kaufmann E, Staemler M. (eds): Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie. Berlin, Walter Gruyter, Vol. 3 p 750 (1961)

86. KUSCHINSKY, G., LÜLLMANN, H.: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 8. Aufl. Thieme, Stuttgart (1978)

87. LAMPERT, P.: A comparative electron microscopic study of reactive, degenerating, regenerating and dystrophic axons. J. Neuropathol. Exp. Neurol. 26, 345 (1967)

88. LAMPERT, P.W., SCHOCHET, S.S.: Demyelination and remyelination in lead neuropathy. Electron microscopic studies. J.Neuropathol.Exp.Neurol. 26,527 (68)

89. LAMPERT, P.W. and SCHOCHET, S.S.: Ultrastructural Changes of peripheral Nerve. In Trump,B.F., Jones, R.T. (eds.) Diagnostic Electron Microscopy Vol. 2, Chapt. 7; New York, John Wiley, 309 (1979)

90. LANDON, D.N. and WILLIAMS, P.L.: Ultrastructure of the node of Ranvier. Nature, London 199, 575,(1963)

91. LANDON, D.N.: The Peripheral Nerve. Chapman and Hall (London) (1976)

92. LANGELAND, K.: Root canal sealents and pastes. Dent. Clin.N.Amer. 18, 309 (1974)

93. LANGELAND, K., BLOCK, R.M. and GROSSMANN, L.J.: A histpathologic and histobacteriologic study of 35 periapical endodontic surgial specimen. J.of Endodontics 3, 8 (1977)

94. LANGELAND, L.K., DOWDEN, W. and LANGELAND, K.: Formocresol, Mumification, tissue desintegration, microbes, inflammation, resorption and apposition. J.dent.Res.55, (Suppl.B 128), Abstr.No 268 (1976)

95. LANGLEY, O.K., LANDON, D.N.: A light and electron histochemical approach to the node of Ranvier and the myelin of peripheral nerve fibres. J. Histochem.Cytochem. 15, 722 (1968)

96. LANTERMANN, A.J.: Über den feineren Bau der markhaltigen Nervenfasern. Archiv für Mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik, 13, 1 (1877)

97. LEE, J.C.Y.: Electron microscopy of Wallerian degeneration. Journal of Comparative Neurology 120,65 (1963)

98. LEIRSKAR, J.: Biologic effects of dental restorative materials. An in vitro study on the mechanism of cytotoxicity of dental amalgams and silicate cement. Thesis, Oslo University Press (1974)

99. LE QUESNE P.M.: Iatrogenic neuropathies. In Handbook of Clinical Neurology, ed. VinkenP.J. and Bruyn G.W. pp. 527 North-Holland, Amsterdam (1979)

100. LINDNER, G.: Irritation des Nervus mentalis nach Wurzelfüllung des linken, unteren zweiten Prämolaren. Quintess. zahnärztl. Lit. 22, 29 (1971)

101. LINDNER, K.: Experimentelle, klinisch-röntgenologische und histologische Untersuchungen über das Wurzelkanal-Füllmaterial "Endomethasone". Med. Diss. Tübingen (1975)

102. LIU, H.M.: Schwann cell properties: I. Origin of Schwann cell during peripheral nerve regeneration. Journal of Neuropathology and experimental Neurology 32, 458 (1973)

103. LUI, H.M.: Schwann cell properties: II. The identity of phagocytes in the degenerating nerve. American Journal of Pathology 75, 395 (1974)

104. LUBIŃSKA, L.: Region of transition between preserved and regenerating parts of myelinated nerve fibres. Journal of Comparative Neurology 113, 315 (1959)

105. LUBIŃSKA, L.: Demyelination and remyelination in the proximal parts of regenerated nerve fibres. J. Comp. Neurol. 117, 279 (1961)

106. MACHIDA, K.: Experimental study of degeneration and regeneration after inferior alveolar nerve section. Shikwa Gaku. 77, 1661 (1977)

107. MAEGLIN, B.: Über das Verhalten des Gewebes gegenüber einem Wurzelfüllmaterial auf der Basis eines Epoxydharzes. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 70, 212 (1960)

108. MAIZUMI, H. und SAUERWEIN, E.: Die Wirkung verschiedener Vitalerhaltungs- und Wurzelfüllmittel auf Gewebekulturen. Dtsch. zahnärztl. Z. 17, 1628 (1962)

109. MARTINEZ, A.J. und FRIEDE, R.L.: Accumulation of axoplasmic organelles in swollen nerve fibres. Brain Research 19, 183 (1970)

110. MEYER, N.: Die akute, unspezifische Toxizität von Zementen, Kunststoffen und Wurzelkanalfüllmaterialien im subkutanen Rattenimplantationsversuch. Med. Diss. Tübingen(1982)

111. MEYER, R. und LINDNER, K.: Das Wurzelfüllmaterial "Endomethasone". Teil I.: Klinisch-rötgenologische Untersuchungen. Zahnärztl. Welt 85, 937 (1976) Teil II.: Experimentelle und histologische Untersuchungen einschließlich abschließender Beurteilung. Zahnärztl. Welt 86, 116 (1977)

112. MONTGOMERY, S.: Paresthesia following endodontic treatment. j. Endodont. 2, 345 (1976)

113. MORGAN-HUGHES, J.A. and ENGEL, W.K.: Structural and histochemical changes in the axons following nerve crush. Arch.Neurol.(Chic.) 19, 598 (1968)

114. MORRIS, J.H., HUDSON, A.R. and WEDDELL, G.: A study of degeneration and regeneration in the divided rat sciatic nerve based on electron microscopy. Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie, 124, 76 (1972)

115. MOSER, M.: Schädigung des Nervus mandibularis der Ratte durch Dontisolon, Endomethasone, Grossmannzement, Ledermix und N 2. Dissertation Tübingen (1983)

116. MURUZABAL, M. and ERAUQUIN, J.: Response of periapical tissues in the rat molar to root canal fillings with diaket and AH 26. Oral Surg. 21, 786 (1966)

117. MURUZABAL, M., ERAUSQUIN, J. and DEVOTO, F.C.H.: A study of periapical overfilling in root canal treatment in the molar of the rat. Arch.Oral.Biol 11 373

(1966)

118. NAPOLITANO, L.M., SCALLEEN, T.J.: Observations on the fine structure of peripheral nerve myelin. Anat. Rec. 163, 1 (1969)

119. NATHAN, P.W., SEARS, T.A. and SMITH, M.C.: Effects of Phenol Solutions on the Nerve Roots of the cat. J. neurol. Sci. 2, 7 (1965)

120. NOVAK, L. NEMECEK, ST. und PUZA, V.: Untersuchungen über die kurz- und langfristige Gewebsreaktion auf die Wurzelfüllpaste AH 26. Dtsch. zahnärztl. Z. 21, 584 (1966)

121. O'DALY, J.A. and IMAEDA, T.: Electron microscopic study of Wallerian degeneration in cutaneous nerves caused by mechanical injury. Laboratory Investigation, 17, 744 (1967)

122. OHMI, S.: Electron microscope study on Wallerian degeneration of the peripheral nerve. Z. für Zellfor. u. mikrosk. Anat. 54, 39 (1961)

123. OHMI, S.: Electron microscopy of peripheral nerv regeneration. Z.Zellforsch 56, 625 (1962)

124. OLSSON, Y. and SJÖSTRAND, J.: Origin of macrophages in Wallerian degeneration of peripheral nerves demonstrated autoradiographically. Exp. Neurol. 23, 102 (1969)

125. OLSSON, B., SLIKOWSKI, A. and LANGELAND, K.: Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. J. Endodont. 7, 355 (1981)

126. OLSSON, Y.: Mast cells in the nervous system. Int. Rev. Cytol 24, 27 (1968)

127. PAYER, A.F.: An ultrastructural study of Schwann cell response to axonal degeneration. J.comp.Neurol. 183, 365 (1979)

128. PEYRONNARD, J.M., AGUAYO, A.j. and BRAY, G.M.: Schwann cell internuclear distances in normal and regenerating unmyelinated nerve fibres. Arch. Neurol. (Chicago) 29, 56 (1973)

129. PFEIFER, G., LENTRODT, J.: Die forensische Bedeutung von chirurgischen Läsionen sensibler Nerven im Mund-Kiefer-Gesichtsbereich. Dtsch. zahnärztl. Z. 35, 202 (1980)

130. PILZ, W., PLATHNER, C.H., TAATZ, H.: Grundlagen der Kariologie und Endodontie. Carl Hanser Verlag, München (1969)

131. POWELL, D.L., MARSHALL, F.J. und MELFI, R.C.: A histopathologic evaluation of tissue reactions of the minimum effective doses of some endodontic drugs. Oral Surg. 36, 261 (1973)

132. RAPPAPORT, H.G.L. and KAPSIMALIS, P.: Toxicity of endodontic filling materials. Oral Surg. 18, 785 (1964)

133. REID, N.: Practical methods in electron microscopy. Vol. 3 Part II: Ultramicrotomy, North-Holland publishing Company Amsterdam Oxford ; edited by Glauert A.M. (1974)

134. RIEGGER, H.: Die Wirkung von Chloropercha, ChKM, Grossman-Zement, Guttapercha, Jodoform-Paste, Kloroperka und N2 normal auf den Nervus mandibularis der Ratte; eine elektronenmikroskopische Studie. In Vorbereitung

135. RIETHE, P., SCHMELZLE, R. und SCHWENZER, N.: Arzneimitteltherapie in der Zahn- Mund und Kieferheilkunde. Thieme, Stuttgart (1980)

136. ROBERTSON, J.D.: The ultrastructure of Schmidt-Lantermann clefts and related shearing defects of the myelin sheath. J. Biophys. Biochem.Cytol. 4, 39 (1958a)

137. ROBERTSON, J.D.: Stuctural alterations in nerve fibres produced by hypotonic and hypertonic solutions. J. Biophys. Biochem. Cytol. 4, 349 (1958)

138. ROBERTSON, J.D.: The unit membrane of cells and mechanisms of the myelin formation. In Ultrastructure and Metabolism of the Nervous System, Research Publikation A.R.N.M.D. 40, 94 (1962)

139. RUBBO, S.D., REICH, J. and DIXSONS, S.: The use of a combination of Neomycin, Bacitracin and Polymyxin in Endodontics. Oral Surg. 11, 878 (1958)

140. SANDERS, F.K. and WHITTERIDGE, D.: Conduction velocity and myelin thickness in regenerating nerve fibres. J.Physiol. (London), 105, 152 (1946)

141. SEIDNER, S.: Toxische Erscheinungen durch Amalgam und Quecksilber. Zahnärztl. Prax. 21, 64 (1970)

142. SCHAUMBURG, H.H.: Disorders of peripheral Nerves. Contemporary Neurol. Ser. No. 24 (1983)

143. SCHLAEPFER, W.W.: Calcium-induced degeneration of axoplasm in isolated segments of rat peripheral nerve. Brain Research 69, 203 (1974)

144. SCMALZ, G.: Die Gewebsverträglichkeit zahnärztlicher Materialien. Möglichkeiten einer standartisierten Prüfung in der Zellkultur. Thieme Copythek, Stuttgart (1981)

145. SCMELZLE, R.: Diagnostik und Therapie der iatrogenen Schädigung des Nervus mandibularis durch Wurzelkanalfüllmaterialien. Vortrag bei der Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Garmisch 1982

146. SCHMELZLE, R.: Persönliche Mitteilung 1983

147. SCHRÖDER, A.: Gewebeverträglichkeit des Wurzelfüllmittels AH 26. Zahnärztliche Welt 66, 559 (1957)

148. SCHRÖDER, J.M.: Altered ratio between axon diameter and myelin sheath thickness in regenerated nerve fibres. Brain Res. 45, 49 (1972)

149. SCHUBERT, L.: Über die Gewebsverträglichkeit einiger Kunstharz-Wurzelfüllmittel. Dtsch.azhnärztl.Z. 9, 267 (1954)

150. SEDDON, H.J.: Three types of nerve injury. Brain 66, 237 (1943)

151. SPANGBERG, L.: In vitro assessment of toxicity of endodontic materials. Int. Endodont. J. 14, 42 (1981)

152. SPANGBERG, L., ENGSTRÖM, B.: Studies on root canal medicaments. II. Cytotoxic effect of medicaments used in root filling. Acta odont.scand. 25, 183 (1967)

153. SPENCER, P.S. and SCHAUMBURG, H.: Pathobiology of neurotoxic axonal degeneration. Physiology and Pathobiology of axons, edited by S.G. Waxman, Raven Press, New York (1978)

154. SPERBER, G.H.: Biological reactions to experimental dental amalgams. J.dent.Res. 45, 99 (1966)

155. STRAFFON, L.H. and HAN, S.S.: The effect of formocresol on hamster connective tissue. Arch. Oral. Biol. 13, 271 (1968)

156. SUNDERLAND, S.: The connective tissue of peripheral nerves. Brain 88, 841 (1965)

157. SUNDERLAND, S.: Nerves and Nerve Injuries. Second Edition by F. Walshe, Churchill Livingstone Edinburgh. London and New York 82, 173 (1978)

158. TERRY, R.D. and HARKIN, J.C.: Regenerating peripheral nerve sheaths following Wallerian degeneration. Experimental Cell Research 13, 193 (1957)

159. TERRY, R.D. and HARKIN, J.C.: Wallerian degeneration and regeneration of peripheral nerves. In The Biology of Myelin, (ed.) Korey, S.A. pp. 303. Cassell: London (1959)

160. THOMAS, P.K.: The connective tissue of peripheral nerve: an electron microscope study. J.Anat. 97, 35 (1963)

161. THOMAS, P.K.: Changes in the endoneurial sheaths of peripheral myelinated nerve fibres during Wallerian degeneration. J.Anat. 98, 175 (1964a)

162 THOMAS, P.K.: The deposition of collagen in relation to Schwann cell basement membrane during peripheral nerve regeneration. J.Cell Biol. 23, 375 (1964b)

163. THOMAS, P.K.: The ultrastructural pathology of unmyelinated nerve fibres. New Developments in Electromyography and Clinical Neurophysiology 2, 227 (1973)

164. TORNECK, C.D.: Reaction of hamster tissue to drugs used in sterilisation of the root canal. Oral Surg. 14, 730 (1961)

165. VENABLE, J.H. and COGGESHALL, R.: Nachkontrastieren von Ultradünnschnitten mit Bleizitrat. J.Cell Biol. 25, 407 (1965)

166. VIAL,J.D.: The early changes in the axoplasm during Wallerian degeneration. Journal of Biophysical and Biochemical Cytology, 4, 551 (1958)

167. WALLER, A.V.: Experiments on the section of the glossopharyngeal and hypoglossal nerves of the frog, and observations of the alterations produced thereby in the structure of their primitive fibres. Philosophical Transactions of the Royal Society 140, 423 (1850)

168. WEBSTER, H de F.: Transient, focal accumulation of axonal mitochondria during the early stages of Wallerian degeneration.J.Cell Biol. 12, 361 (1962)

169. WEBSTER, H. de F.: Some ultrastructural features of segmental demyelination and myelin regeneration in peripheral nerve. Progress in Brain Research 13, 151 (1964)

170. WEBSTER, H. de F. and SPIRO, D.: Phase and electron microscopic studies of experimental demyelination. I. Variations in myelin sheath contour in normal guinea-pig sciatic nerve. J. Neuropathol. and Experiment. Neurolog. 19, 42 (1960)

171. WEBSTER, H. de F.: The geometry of peripheral myelin sheaths during their formation and growth in rat sciatic nerves. J. Cell Biol. 48, 348 (1971)

172. WEBSTER, H. de F.: Peripheral nerve structure. In J.I. Hubbard(Ed.) The Peripheral Nervous System, Plenum Press, New York pp 3 (1974)

173. WECHSLER, W. und HAGER, H.: II.Elektronenmikroskopische Befunde zur Feinstruktur von Axonveränderungen in regenerierenden Nervenfasern des Nervus ischiadicus der weißen Ratte. Acta Neuropath. 1, 489 (1962a)

174. WECHSLER, W. und HAGER, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Wallerschen Degeneration des peripheren Säugetiernerven. Beitr. path.Anat. 126, 352 (1962b)

175. WEISS, P. and WANG, H.: Transformation of adult Schwann cells into macrophages. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 58, 273 (1945)

176. WELLER, R.O. and HERZOG, I.: Schwann cell lysosomes in hypertrophic neuropathy and in normal human nerves. Brain 93, 347 (1970)

177. WELLER; R. O.: Pathology of Peripheral Nerves, Butterworth u. Co. (Publishers) London, Boston (1977)

178. WILLIAMS, P.L. and HALL, S.M.: Chronic Wallerian degeneration - an in vivo and ultrastruczural study. J.Anat. 109, 487 (1971)

179. WIŚNIEWSKI, H. and RAINE, C.S.: An ultrastructural study of experimental demyelination and remyelination. V. Central and peripheral nervous system lesions caused by diphtheria toxin. Laboratory Investigation 25, 73 (1971)

180. WUERKER, R.B. and KIRKPATRICK, J.B.: Neuronal microtubules, neurofilaments and microfilaments. International Review of Cytology, 33, 45 (1972)

181. ZELENÁ, J.: Ribosome-like particles in myelinated axons of the rat. Brain Research, 24, 359 (1970)

182. ZELENA, J., LUBINSKA, L., GUTMANN, E.: Accumulation of organelles at the ends of interrupted axons. Z.Zellforch. Mikrosk. Anat. 91, 200 (1968)

Anhang I

Zusammensetzung der untersuchten Wurzelkanalfüllmaterialien nach Herstellerangaben:

1. Ledermix-Paste^{R}:

Hersteller:	Firma Lederle
Zusammensetzung:	3,21% Demethylchlortetracyclin (Ledermycin, Breitspektrum-antibiotikum)
	1,00% Triamcinolon-acetonid

2. Dontisolon-Paste^{R}:

Hersteller:	Firma Hoechst
Zusammensetzung:	in fettfreier Grundlage:
	3,75% Trypsin-Chymotrypsin
	0,50% Prednisolon (als Acetat)
	0,35% Neomycin-HCl (als Base)
	0,30% N-N`-Bis- [-4-amino-2-methyl-chinolyl-(6)] -harnstoff-di-hydrochlorid

3. AH 26^{R}:

Hersteller:	Firma De Trey
Zusammensetzung:	60% Bismutoxid
	25% Hexamethylentetramin
	10% metallisches Silber
	5% Titandioxid
	Flüssigkeit: Epoxybisphenol 100%

4. Asphaline A^{R}:

Hersteller:	Firma Alfred Becht
Zusammensetzung:	11% Thymol
	11% Paraform
	11% Kampfer
	22% Zinkoxid

5. Endomethasone^{R}:

Hersteller:	Firma Septodont
Zusammensetzung:	71,7% Zinkoxid
	25,0% 3,3 -Dijod-2,2-Dimethyl-5,5-diisopropyldiphenochinon-(4,4)
	2,2% Paraformaldehyd
	1,0% Hydrocortisonacetat
	0,01% Dexamethason
	Flüssigkeit: Eugenol

6. Calxyl^{R}:

Hersteller:	Firma Otto und Co.
Zusammensetzung:	93,0% Calciumhydroxid
	Strontiumcarbonat in Blutsalzlösung

7. Cresytin W^{R}:

Hersteller:	Firma Dr. Speier
Zusammensetzung:	15,0% Cassiaöl
	61,0% Trikresol
	70,0% Zinkoxid

8. Amalgam^{R}:

Hersteller:	Firma Vivadent
Zusammensetzung:	Silber-Kupfer-Kugeln
	Degussa-Dental-Quecksilber
	Mischverhältnis: Alloy : Hg = 1 : 1,2

Herrn Prof. Dr. Dr. R. Schmelzle danke ich ganz herzlich für die Überlassung dieses Themas und für seine mir zuteil gewordene freundliche Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. U. Schmidt bin ich zu großem Dank verpflichtet für seine mir stets gewährte Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit. Desweiteren schulde ich ihm Dank für wertvolle Anregungen und für die Übernahme der Korrektur meiner Dissertation.

Dem Direktor der submikroskopischen Abteilung der Pathologie der Universität Tübingen, Herrn Prof. Dr. W. Schlote, danke ich ganz besonders für die immer bereite Hilfe und Unterstützung, sowie für die Erlaubnis der uneingeschränkten Mitbenutzung sämtlicher wissenschaftlicher Gerätschaften.

Außerdem bedanke ich mich bei Frau K. Klaus und H. Munz aus der Zahnklinik, sowie bei Herrn H. Riegger für gute Zusammenarbeit.

LEBENSLAUF

Am 09. Januar 1955 wurde ich, Hans-Dieter Müller als Sohn des Johann Müller und dessen Ehefrau Margarete, geborene Doster in Kirchheim unter Teck geboren.

Von 1962 bis 1966 besuchte ich die Grundschule, anschließend die Realschule und danach das Wirtschaftsgymnasium in Kirchheim unter Teck, wo ich im Juni 1974 das Abitur ablegte.

Von Januar 1975 bis März 1976 leistete ich meinen Grundwehrdienst bei der Bundeswehr in Klingholz und Ulm ab.

Im SS 1977 begann ich in Tübingen das Studium der Pharmazie, im WS 1978/79 wechselte ich über zum Studium der Zahnheilkunde, ebenfalls an der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen.

Nach 2 Semestern legte ich die naturwissenschaftliche, nach weiteren 3 Semestern die zahnärztliche Vorprüfung und am 14. Dezember 1983 das Staatsexamen ab. Am 21. Dezember 1983 erhielt ich die Bestallung als Zahnarzt.

Seit 15.Februar 1984 bin ich als wissenschaftlicher Angestellter in der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. G. Schmalz) der Klinik und Poliklinik für Zahn- Mund- und Kieferkrankheiten der Universität Regensburg tätig.